ARCHIV

für

Mikroskopische Anatomie

I. Abteilung

für vergleichende und experimentelle Histologie und Entwicklungsgeschichte

II. Abteilung

für Zeugungs- und Vererbungslehre

herausgegeben

von

O. Hertwig und **W. Waldeyer**
in Berlin

Neunundsiebzigster Band

II. Abteilung

Mit 13 Tafeln und 17 Textfiguren.

BONN

Verlag von Friedrich Cohen

1912

F159

1460

Inhalt.

Abteilung II.

Erstes Heft. Ausgegeben am 3. Januar 1912.

Seite

Über die Rückbildung der Eier gefütterter, aber unbegatteter Weibchen von Rana esculenta. Von Ludwig Burkardt, cand. med. (Aus dem biologischen Laboratorium der Universität Bonn.) Hierzu Tafel I—III und 1 Textfigur 1

Zweites Heft. Ausgegeben am 12. Februar 1912.

Die Urgeschlechtszellen von Amblystoma. Ein Beitrag zur Kenntnis der Keimbahn der Urodelen Amphibien. Von Reinhold Schapitz, cand. zool. (Aus dem zoologischen Institut der Universität Halle.) Hierzu Tafel IV, Va, Vb und 3 Textfiguren 41

Über ein bemerkenswertes Strukturelement (Heterochromosom?) in der Spermiogenese des Menschen. Von Dr. S. Gutherz. (Aus dem zoologischen Institut der Universität Berlin.) Hierzu Tafel VI und 2 Textfiguren 79

Literarisch-kritische Rundschau. Referate von A. Brachet — Oscar Hertwig — Bernhard Dürken 96

Drittes Heft. Ausgegeben am 18. März 1912.

Die Spermiogenese beim Pferde. I. Von Dr. S. Kirillow, Prosektor am anatomischen Institut der Tierärztlichen Hochschule in Kasan. (Aus dem anatomisch-biologischen Institut der Universität Berlin.) Hierzu Tafel VII und 1 Textfigur 125

Transplantationen embryonaler und jugendlicher Keimdrüsen auf erwachsene Individuen bei Anuren nebst einem Nachtrag über Transplantationen geschlechtsreifer Froschhoden. Von R. Meyns. (Aus dem biologischen Laboratorium der Universität Bonn.) Hierzu Tafel VIII 148

Literarisch-kritische Rundschau 177

Viertes Heft. Ausgegeben am 26. April 1912.

Der Hermaphroditismus bei Fröschen. Von Davenport Hooker. (Aus dem biologischen Laboratorium der Universität Bonn.) Hierzu Tafel IX und 1 Textfigur 181

Das Schicksal des mit Radium bestrahlten Spermachromatins im Seeigelei. Eine experimentell-cytologische Untersuchung. Von Günther Hertwig. (Aus dem anatomisch-biologischen Institut zu Berlin.) Hierzu Tafel X—XII und 9 Textfiguren 201

Aus dem biologischen Laboratorium der Universität Bonn.

Über die Rückbildung der Eier gefütterter, aber unbegatteter Weibchen von Rana esculenta.

Von

Ludwig Burkardt, cand. med.

Hierzu Tafel I—III und 1 Textfigur.

Die bis jetzt bekannt gewordenen Untersuchungen über die Rückbildung von Eiern sind an Ovarien angestellt worden, die sich in einem unbekannten funktionellen Zustand befanden. Bedingungen, durch welche die Rückbildung veranlasst wird, oder werden kann, sind nicht erwähnt. Es dürfte daher eine Veröffentlichung von Ergebnissen, die unter Anwendung des Experimentes erzielt wurden, zur Bestätigung und Erklärung der bereits gefundenen Tatsachen beitragen.

Experimentelle Untersuchungen über Rückbildung an den Geschlechtsdrüsen von Amphibien stellte zuerst M. Nussbaum (1) an. Er berichtet über den Einfluss des Hungers auf die Hoden sowohl über eine makroskopisch sichtbare Abnahme dieser Organe, als auch über die histologisch festgestellte Rückbildung der fertigen Samenfäden und deren Entwicklungsstadien, während die Spermatogonien erhalten bleiben. Im Anschluss an diese Beobachtungen beschrieb Hans Heidkamp (2) die durch Hunger an den Eierstöcken und Eileitern von Triton hervorgerufenen Veränderungen. Die vorliegende Arbeit behandelt die Folgen, welche durch Isolierung kurz vor der Brunstzeit bei Rana esculenta am Eierstock auftreten. Hinzugefügt ist ferner ein Vergleich isolierter Tiere mit solchen, die zu entsprechenden Zeiten frisch gefangen und sofort untersucht wurden.

Um die Bedeutung der Gefangenschaft für die Eiablage zu würdigen, bedarf es zunächst einer kurzen Betrachtung der Verhältnisse bei dem in der Freiheit lebenden Frosch. So setzt Rana fusca auch ohne vorher begattet zu sein, ihren Laich ab. Das Laichgeschäft ist dann allerdings verlangsamt und durch Pausen verzögert, grössere Eimengen bleiben im Uterus zurück.

Dass Rana fusca bei Nichtbegattung oder vorzeitiger Unterbrechung der Brunst etwa durch ungünstige Witterung oft zugrunde geht, erklärt M. Nussbaum (3) durch die Quellung der Gallerthülle, welche die Eier bei der Passage des Eileiters erhielten. Die Quellung kommt durch Eindringen von Wasser oder Lymphe in die Gallerthülle zustande. Die Lymphe verquillt den aus dem Uterus in die Bauchhöhle zurücktretenden Rest der Eier, wodurch der Blutkreislauf behindert wird. Der Tod durch Wasserquellung kann bei hochgradiger Kloakenlähmung eintreten, wenn das Wasser in den mit Eiern gefüllten Uterus eindringen kann, und durch Quellung seines Inhaltes den Uterus selbst, ja sogar die Bauchdecken zum Platzen bringt. Findet dagegen bei Rana esculenta in der Freiheit eine Begattung statt, so legt sie sämtliche Eier ab. Das geschieht nach den Feststellungen Pflügers (4) nicht, wenn die Tiere in Gefangenschaft gehalten werden. Dass diese Tierart trotzdem nicht zugrunde geht, erklärt M. Nussbaum aus dem Verhalten der reifen Eier. Während Rana fusca unter allen Umständen ihre Eier ablegt und dabei den soeben genannten Gefahren ausgesetzt ist, kommt Rana esculenta deshalb nicht zur Eiablage, weil die Eier nach M. Nussbaum im Eierstock zurückgehalten werden und der Resorption anheimfallen. Über den Vorgang der Resorption von Amphibieneiern berichtet ausführlich G. Ruge (5).

Er fand bei Siredon pisciformis an nicht befruchteten reifen oder reifenden Ovarien eines im Dezember getöteten Tieres neben grossen und noch heranreifenden Entwicklungsstadien des normalen Ovariums, wie sie schon O. Schultze beschrieben hat, solche, die an ihrer Oberfläche ein mit blossem Auge erkennbares Gefässnetz zeigten. Dazwischen abnorm geformte Gebilde mit rötlich bräunlicher bis bräunlicher Färbung. Die beiden letzteren Formen beschreibt Ruge als rückgebildete Eier, ohne bestimmte zeitliche Angaben über den Zustand der Rückbildung zu machen. Ausdruck der zeitlichen Aufeinanderfolge scheint ihm die verschiedene Grösse der Stadien zu sein. In einem Anfangsstadium der Rückbildung fehlte das Keimbläschen. Die Art seines Schwindens konnte nicht mehr festgestellt werden. Für seine frühere Anwesenheit sprach die differenzierte, nur bei Anwesenheit des organisierenden Lebenszentrums der Zelle mögliche Ausbildung. An Stelle des Kernes fanden sich Zellen mit Kern und hellem

Zellkörper, im Inneren des Dotters vereinzelte verschieden grosse Zellen, stellenweise im Zusammenhang mit einer peripheren, mehrschichtigen Lage heller Zellen. In der Nähe des animalen Poles enthalten diese, ebenso die frei im Dotter liegenden, Pigment. Ohne Zusammenhang mit den erwähnten finden sich mehrkernige Zellen, die sich auch durch ihre Gestalt von den erstgenannten unterscheiden. Blutgefässe sind in einem, dem mehrschichtigen Epithel aufliegenden, einschichtigen Plattenepithel. Sie werden reichlicher und senden Sprosse in das Epithel und selbst in den Dotter. An späteren Stadien findet man sie nicht mehr an der Peripherie, sondern im Dotter. Diese Eier zeigen Oberflächenschrumpfung, Dotterverminderung und an Stelle des zusammenhängenden mehrschichtigen Epithels in Gruppenbildung gegen das Innere vorgedrungene Elemente, die im Dotter gleichsam Wege hinterlassen, da, wo sie ihn bis zum Verlust seines Färbungsvermögens verändert haben. Nach völligem Verlust des charakteristischen Dotters erkennt man die Einatur der Reduktionsprodukte nur noch an dem widerstandsfähigeren Pigment. Dieses lagert sich um Blutgefässe und junge Eier, die den durch die Atresie geschaffenen Raum ausnützen. Ruge fasst das in Schollenform im Epithel degenerierender Eier oft vorkommende Pigment als Rest eines älteren rückgebildeten Eies auf, so dass „in der einen Generation noch Andeutungen einer früheren vorhanden sind". Durch die Einwirkung der zelligen Elemente wird der Dotter nach Aufgabe seiner Struktur durch Erweichung und chemische Veränderung in einen resorbierbaren Zustand versetzt. Das degenerierende Ei ist jederzeit von einem einfachen Plattenepithel umgrenzt. Die erwähnte ursprünglich flache und einschichtige, später mehrschichtig werdende Zellage sendet ihre vermehrten, vergrösserten und mit Fortsätzen versehenen Zellen tiefer in den Dotter. Es bildet sich bald eine charakteristische Zellform und Dreischichtigkeit des Epithels heraus. Ein oberflächliches Plattenepithel, eine darauffolgende Lage von einer Zellschicht, oder mehreren übereinanderliegenden platten Elementen, und endlich ein grosszelliges, den Dotter berührendes Dotter- oder Eiepithel. Die zweite Schicht trug Zeichen der Rückbildung, wie Zerklüftung, direkte Kernteilung ohne nachfolgende Zellteilung und spätere Schrumpfung. Die Zellen des anfangs auch einschichtigen Dotterepithels werden kubisch, und entsenden stumpfe

Fortsätze in den Dotter, wobei sich in den schwellenden Zellkernen Kernkörperchen ansammeln. Diese Kerne teilen sich nach Ruge direkt. Bald verlieren die Zellen ihren Zusammenhang und treten in innigste Beziehung zum Dotter selbst. Zwischen den Epithelzellen sowie frei im Dotter liegen rote und weisse Blutkörperchen aus den in den Dotter vorgerückten Gefäßsprossen. Die Epithelien sind zum Teil selbst vascularisiert und enthalten rote Blutkörperchen. An den weissen Blutzellen wurden ebenfalls regressive Veränderungen beobachtet, bestehend in Gestaltsveränderung, Auftreibung des Kernes, Aufnahme von Dotterplättchen und Pigment. Der Kern kann bis zuletzt erhalten bleiben, und die Grenze des Protoplasmas nur durch entsprechend angeordnete Dotterplättchen erkennbar sein. Freie Kerne erscheinen nach Verlust der Färbbarkeit als helle Bläschen. In dem schwindenden Zelleib konfluieren die Dotterplättchen und werden der Resorption zugängig gemacht. Die Blutzellen nehmen aber kein Pigment mehr auf, weil es bereits von den Epithelien weggeschafft wurde. In letzteren nimmt es durch die Bläschenbildung des Protoplasmas eine netzförmige Struktur an, stellenweise Körnchenhaufen und Schollen bildend. Pigmentzellen und freies Pigment im Innern des Dotters stammen von ausgewanderten noch bestehenden, oder bereits untergegangenen Zellen der Peripherie. Der Vorgang der Pigmentaufnahme selbst konnte nicht festgestellt werden. Ruge lässt gelten, dass nicht ganz reife Eier nur wenig Pigment gebildet haben könnten. Einfacher erklärt sich die Dotterverminderung durch die intravitellinen Zellen. Deren Wachstum beruht auf dem nutritiven Einfluss der Gefässe und der Aufnahmefähigkeit der Epithelien für geformte und verflüssigte Elemente. Die aufgenommenen Dotterplättchen verändern sich in ihnen ähnlich wie in den beschriebenen weissen Blutzellen. Nach ihrer mit dem Untergang der Zelle verbundenen Verflüssigung werden sie von den Gefässen transportiert. Ruge fand für Siredon zwei Formen der Karyolyse in den untergehenden Epithelien. Bei der einen Form bleibt die Gestalt des Kernes noch längere Zeit erhalten, während bei der anderen Art Formveränderung und innere Destruktion vorherrscht. Der weniger feste Dotter junger Eier wird ohne weiteres in die Blutgefässe aufgenommen. Die später übrig bleibenden konfluierten Massen reifer Eier sind von Zellgruppen umlagert und von diesen gleichsam angenagt.

An Anfangs- und Mittelstadien von Eiern der Salamandra maculosa fand Ruge weitere Einzelheiten. Es handelt sich um eine zwischen dem Peritoneal- resp. Sinusepithel und dem Eiepithel sich ausbildende mittlere Zellage, die von dem Eiepithel, möglicherweise auch von dem Ovarialstroma herstammt und durch Fibrillenbildung und Gehalt an Gefässen zeitweilig als die stärkste Schicht erscheint. Mit fortschreitender Eireife büsst sie an Selbständigkeit ein, und gewinnt nach dem Tode der Eizelle wieder neue Lebenskraft. An einem 2,2—2,5 mm Durchmesser fassenden bereits abgestorbenen Ei war die deutliche Grenze zwischen ihr und dem Eiepithel geschwunden. Die Zellen zeigten vielfach auf indirekte Teilung deutende Kernabschnürungen, sowie direkte Kernteilung. An einem sich rückbildenden, noch unreifen Ei mit Keimbläschen und strukturlosem Dotter sah Ruge Vascularisation, Wucherung des oberflächlichen Epithels und Auswanderung von Zellen in das Eiinnere. Weil die Anzahl dieser Zellen im Gegensatz zu reifen Eiern sehr spärlich ist, betont Ruge neben dem nutritiven Reiz des Dotters noch eine chemotaktische Wirkung seitens der geformten Dotterplättchen. Das äusserst fein granulierte, mit deutlicher Kernmembran versehene Keimbläschen enthielt neben intensiv mit Carmin gefärbten Kernkörperchen solche, die mit Bleu de Lion eine bläuliche Färbung annahmen und zu Ballen confluierten, zwischen denen stark rotgefärbte Körnchen als Knotenpunkt eines unregelmässigen Chromatinnetzes auftraten. Von den letzten Stadien der Rückbildung wurden zwei Formen unterschieden, eine von sehr unregelmässiger Gestalt mit confluierten Dottermassen, eine zweite mit feinkörnigem Inneren, mehrschichtigem hellem Dotterepithel und Blutgefäßschlingen zwischen reichlichen Zellgruppen, anscheinend von unreifen Eiern stammend.

Von ähnlichen Befunden über Eierstocksdegeneration berichten andere Autoren.

E. Pflüger weist bei Säugetieren auf das Zugrundegehen unzähliger Eier hin und vergleicht die dabei beteiligten, dem Dotter aufsitzenden Zellen mit schmarotzenden Pilzen; desgleichen sah er Fortsätze der Granulosazellen sich durch die Zona pellucida erstrecken.

Mit Bonnets (7) und Schlens (8) Befunden stimmt Ruge überein, ausser in der Auffassung einiger zellenerfüllter und als normal angesehener Eier. Von diesen Zellen wurde nämlich an-

genommen, dass sie als Futter für die Eizelle dienen sollten, was Bonnet nicht wie Rauber (9) für die Leucocyten annahm. Bonnets Ansicht stützte sich auf das Vorhandensein eines Keimbläschens und einer anscheinend noch normalen Peripherie, während tatsächlich die Zellen im Inneren im Zustande der Auflösung waren. Daraus schliesst Ruge, dass die Zellen am Ende ihrer dotterzerlegenden Tätigkeit angelangt waren. Ein Eindringen von festen Elementen durch das Oolemma des lebenden Eies und deren Verdauung durch das Ei hält er für unannehmbar.

F. E. Beddard (10) verwertete seine mit Ruge übereinstimmenden Befunde bei Lepidosiren durch die Annahme zweier sich verschieden entwickelnder Eiarten. Danach ist die eine Art einer Zelle gleichwertig, die andere ist das Verschmelzungsprodukt ursprünglich getrennter Zellen. Der Dotter soll aus den Blutgefässen aufgenommen werden zur Überführung in das Ei.

A. v. Brunn (11) sah beim Hund Rückbildung von Eiern durch eindringende Zellen. — es war unklar, ob Granulosa oder Leucocyten. — das dabei auftretende Schwinden des Dotters, das Zusammenfallen der Zona, ihr zuweilen vorkommendes Bestehenbleiben als zusammengefallene Membran bis zu ihrer schliesslichen Auflösung, was Ruge jedesmal beim Säugetier fand.

Beim Sperling fand A. v. Brunn bei derselben Rückbildungsart nachher die Zellen als bindegewebigen Anteil der Follikelwand.

Schulin (12) weist die Bedeutung der Granulosa als Bildner der Dotterplättchen zurück, und schreibt deren Entstehen der Eizelle selbst zu. Er bestätigt auch Waldeyers (13) Beobachtung von dem langen Erhaltungsvermögen der Zona. Schulin fand sie als Rest rückgebildeter Eier an einem Präparat von einem Kaninchen und einem dreijährigen Mädchen.

Um die Allgemeingültigkeit des beschriebenen Degenerationsmodus darzutun, gibt Ruge auf Seite 550 und 551 eine kurze diesbezügliche Übersicht.

Bühler (14) untersuchte die Rückbildung des ungeplatzten Follikels bei Bufo cinereus. Er sagt, dass sich die Follikelatresie bei diesem Tier nach den Angaben Ruges vollzieht, dessen Mitteilungen er ergänzt.

An einem eihaltigen Follikel von Bufo vulgaris äusserten sich die ersten Degenerationserscheinungen am Kern. Derselbe war verkleinert, hatte seine normal rundliche Gestalt verloren,

stellenweise war der Kernsaft aus dem Kern ausgetreten, unter entsprechender Abdrängung des Protoplasmas. Die teilweise geschwundene Kernmembran scheint dem pigmentierten Dotter freien Zugang zu dem Kern zu gestatten. Damit geht Änderung der Färbbarkeit und Entstellung der Kernstruktur einher, bis schliesslich nur noch eine intensiv gefärbte Stelle übrig bleibt. Das periphere Protoplasma dieses Eies hat noch normale rundliche Dotterkörnchen, die feinkörnige Pigmentierung bildet an der Peripherie einen dunkleren Saum. Wo der Kern der Peripherie nahe liegt, befindet sich bereits eine Zelle innerhalb des Dotters; in älteren Stadien sind sie ringsherum zu finden. Deren Abstammung leitet Bühler, gleich wie Ruge für Siredon und Salamandra, vom Follikelepithel her. Am Oolemma beschreibt er Verdünnungen und teilweise Durchwanderung von Zellen, hinter denen sich das Oolemma wieder schliesst. Bald ist die Eihaut geschwunden, und der dadurch erleichterte Zutritt weiterer Epithelien führt zur Bildung eines Dotterepithels. Ein des näheren beschriebenes Präparat enthält auch Leucocyten, denen Bühler eine geringe Aufnahmefähigkeit für Dotter zuschreibt. Es wird Ruges Ansicht über die dotterzerlegende Tätigkeit der Epithelien und die Überführung des Dotters in die Blutgefässe bestätigt. Blutgefässe waren aber erst nach dem Vordringen der Epithelien, also später als bei Siredon, bis ins Zentrum der Eizelle vorgedrungen. Die bis zuletzt noch bleibenden Pigmentzellen sind gerade bei Bufo wichtig für die Diagnose früherer Eier, weil der Dotter schon ziemlich früh geschwunden ist. Aus dem Vorhandensein von Pigmentzellen kann auch ein Schluss auf die Grösse der Eier gezogen werden. Sie waren sicher über 0,5 mm gross, weil kleinere Eier noch kein Pigment haben. Wird das Pigment endlich durch den Untergang der Zellen frei, so ist es teils frei, teils an Bindegewebszellen, teils an Leucocyten in den Gefässen gebunden. Das Follikelbindegewebe beteiligt sich an der Resorption nur durch Aussendung von Gefäßsprossen in den Eikörper, es verdichtet sich entsprechend der Verkleinerung des Eies und geht endlich in das Stroma der Lamina superficialis ovarii über. Die Oberflächenepithelien verhalten sich indifferent, und passen sich der Verkleinerung durch Reduktion der Zellen an.

Von den Rückbildungsvorgängen am Eierstock der Fische, speziell Cyclostomen und Teleostier, sagt Bühler, dass die ein-

fache Rückbildung des geplatzten Follikels beim ungeplatzten Follikel kompliziert ist durch die Wegschaffung der Reste des abgestorbenen Eies. Die an der Resorption sich beteiligende Follikelhülle verliert nach der Rückbildung ihre Bedeutung und wandelt sich wieder zu Bestandteilen des Ovarialstromas um. Die dicht an den Falten des Ovariums hängenden 1 mm grossen annähernd reifen Follikel waren im Beginn der Rückbildung makroskopisch gesehen trübweiss, länglich, mit unregelmässig verlaufenden Umschnürungsfurchen, in deren Grund das Oolemma hereindringt. Das zugehörige Ei von 6 μ Grösse enthält gleichmässig zerstreute Dotterkörner, stellenweise durch stark färbbare Massen ersetzt, die auch als Rest des Eikerns bestehen können. Das Epithel trägt die ersten Zeichen des Unterganges. In dem sonst normalen Oolemma sind Zellen und Dotterkörner in allen Stufen der Durchwanderung, teils durch Quellung verändert, und helle zickzackförmige Wege zurücklassend. Die Dotterkörner werden von Epithelzellen aufgenommen, die dadurch vergrössert erscheinen. Trümmer von Dotterkörnern sind auch im Follikelbindegewebe und in Gefässen zu finden; das erklärt Bühler so, dass beim Tode des Eies infolge der Druckverminderung durch Entleerung anderer Eier und Abnahme der Blutfülle intravitelline Flüssigkeit in die periovalären Spalträume dringen und die freien Dotterkörner mit sich reissen konnte. Nach der Dotterverminderung faltet sich das Oolemma. Die eingedrungenen einzeln umherliegenden Epithelien sind vergrössert, haben grössere Kerne und sind angefüllt mit veränderten Dotterkörnern. Auf dieser Stufe ist der Kern noch wenig verändert. Ein Follikel in mittlerem Degenerationszustand besitzt nur Dotterkörner kleinster Form, enthält Dotterepithelien von der Grösse der Follikelepithelien, oft unscharf begrenzt, das zarte Protoplasma mit kleinsten Dotterkörnern versehen. So können auch ausserhalb des Eies gelegene Zellen aussehen. Die Zona ist gefaltet, radiär zerfallen, vakuolisiert und lückenhaft. Die Theca sieht ähnlich aus wie bei einem Corpus luteum.

An einem anderen Reduktionsprodukt kann man die Einatur nur noch an dem übrig bleibenden stark zusammengefallenen Oolemma erkennen. In ausserhalb des Eies gelegenen sich auflösenden Epithelien sind noch Dotterbestandteile zu erkennen. Die Zellen der bindegewebigen Theca transportieren den Dotter

in die nahen Gefässe, in welchem sich auch dotterhaltige Lymphzellen finden.

Ein atretischer Follikel ohne jeglichen Dotterrest unterscheidet sich von einem Corpus luteum durch Reste des Oolemmas. In diesem ist streckenweise noch eine Membrana propria vorhanden, während die Theca externa bereits die Struktur der Lamina ovarii superficialis angenommen hat. Das Oolemma ist zusammengedrängt, dick, fein granuliert, ungleichmässig gefärbt, enthält Vacuolen und einige bindegewebige, oder epitheliale chromatolytische Kerne. Nach Auflösung der Zona ist der Follikel wieder ein Teil des Ovariums.

In einer genaueren Beschreibung stellt Barfurth bei der Bachforelle in Fällen von ungeeigneter Ernährung und bei schlechten Laichplätzen eine Rückbildung in Form fettiger Entartung und schleimigen Zerfalles fest, wobei das Ovarium entartet und produktionsunfähig wird, wenn grössere Eimengen zurückbleiben.

Bühler beschreibt von Coregonus ein der Reife nahestehendes Ei in einem späteren Stadium der Atresie. Dessen Zona pellucida ist gefaltet, ungleichmässig stark und ohne feine Struktur. Das äussere lockere Bindegewebe enthält zerstreute Epithelgruppen. Im Eikörper liegt dicht unter dem Oolemma eine epitheliale mehrfache Zellage, ähnlich einem Dotterepithel mit nach innen sich anschliessenden grösseren Elementen.

Bei früheren Stadien ist die Theca dicker als normal, sie besitzt Gefässe und höhere Zellen. Stellenweise ist das Follikelepithel gehäuft und setzt sich durch Lücken in das periphere Dotterepithel fort. In der Eimitte liegen die Zellen weniger dicht, sind gross, unregelmässig und mit Dotter angefüllt. Ähnliche Dottertrümmer sind auch im Follikelepithel und in der Theca zu finden. Die Zona zerfällt in querer Richtung. Mit Fortschreiten der Atresie ist die Zona strukturlos zusammengeknäuelt, hyalin verquollen und gefaltet, ein Prozess, der mit Zerfall in Detritus und Resorption durch das Grundgewebe endet. Ausser diesen Resten sind noch mit Dotter angefüllte Zellen, anscheinend Follikelepithel, vorhanden. Die Theca bildet eine dünne, mit dem Ovarialstroma zusammenhängende Hülle. Noch übrigbleibender Dotter wird jetzt von Bindegewebszellen und zuletzt von Leucocyten resorbiert, und durch Blut und Lymphgefässe wegtransportiert. In dem Follikel ist der Rest des Oolemmas, spärliche Blutgefässe

und schmalkernige Bindegewebslamellen, die lose und in Nestern angeordnete dottergefüllte Zellen, wahrscheinlich Epithelzellen, zwischen sich fassen. Die Lamellen gehen aus von der inneren Membran der thecaähnlichen Zone. In dieser und in den Septen sind ebenfalls Dotterreste.

In Eiern mit noch nicht entwickelter Membran, in denen also Follikel- und Dotterepithel dicht aneinanderstossen, sieht man langzellige Stränge mit gefasertem Protoplasma. Im Eikörper selbst, wie im peripheren Epithel liegen grössere Zellen, die mit Dotter gefüllt sind. Leucocyten wurden dort nicht gefunden. Zuletzt beteiligt sich das ganze Epithel an der Zerlegung des Dotters. Derselbe ist in zellähnlichen Grenzen zusammengeballt. In den Thecagefässen finden sich einige dotterbeladene Leucocyten. Das vordringende Thecagewebe nützt den geschaffenen Raum bis zur völligen Ausfüllung des Eiinneren aus. Ein Ei ohne Zone und ohne sekundären Dotter, aber mit fast ausgebildetem Dotterepithel verliert beim Untergang sein Protoplasma durch Diffusion. Dabei nehmen die Epithelzellen an Dicke zu und werden mehrschichtig.

Von Kernveränderungen erwähnt Bühler bei kleinen Eiern Zusammenballung des Chromatins und Zerfall in Trümmer. Bei grösseren Eiern wird der Kern grösser, unregelmässig, körnig getrübt, blasst ab, und seine Membran wird ausgezackt. Die Chromatinkörner verquellen.

Böshagen (15) sagt, hinweisend auf die Schwierigkeit der Unterscheidung von Rückbildungsprodukten kleinerer und grösserer Follikel und echter Corpora lutea beim Menschen, dass schon Kölliker (16) für die Rückbildungsform der unreifen Follikel die verdickte Glashaut und für die Corpora lutea die Bildung einer breiten hyalinen fibrösen Krause als typisch annahm, dass ferner Rabl (17) den Gegensatz zwischen den Endstadien beider Formen hervorhob, und stärkere hyaline Degeneration beim Corpus luteum fand, dass er für den Menschen speziell auf den auffälligen, innigen Zusammenhang der sogenannten Glasmembran mit den Bindegewebszellen der Tunica propria, die an der Entwicklung des hyalinen Bandes beteiligt ist, aufmerksam machte.

Böshagen fand nun, dass in einem menschlichen Ovarium fast alle Stadien der Follikelatresie zugleich vorhanden sind. Er sah in seinen Präparaten die Eizelle selbst nicht und ebenso

nicht die Basalmembran, von der Kölliker sagt, dass sie gar nichts mit der Glasmembran der untergehenden Follikel zu tun habe, sondern mit Zerstörung des Follikelepithels zugrunde gehe. Böshagen zeigt bei kleinen Follikeln, dass die Glasmembran anfänglich streckenweise auftritt, noch ehe eine Bindegewebswucherung stattgefunden hat. Wo die Membran fehlt, ist die Innenfläche der Theka mit einer dünnen Schicht konzentrisch gelagerter, oft geschichteter Bindegewebszellen abgegrenzt, die an den mit Glasmembran versehenen Stellen bald unter, bald über dieser liegen können. In anderen Fällen war nur die innere Grenzhaut vorhanden, selbst an ganz bestimmt der Rückbildung verfallenen Follikeln. Die Ausbildung der Glashaut will Böshagen auf Wucherung der Theca interna zurückführen, wie auch Rabl sie als eine Art Ausscheidung der gewucherten Zellen der Theca interna beurteilt hat.

Die Theca interna besteht aus schmalkernigen Bindegewebszellen und mehr saftreichen spezifischen Thecazellen, die sich mit zunehmender Anschwellung mit Fettkörnchen füllen, welche in das Bindegewebe eingelagert waren. Letzteres verbindet Theca externa mit dem bereits erwähnten Bindegewebshäutchen auf dem Dotter. Die Theca interna wird von Bindegewebszellen durchsetzt, die von dem Bindegewebsgerüst, von der Innenhaut oder von einwachsenden Zellen der Theca externa kommen, letztere besonders dort, wo stärkere Ausbildung der Theca interna unterblieben ist. Bestand nun eine Glasmembran, so faltet diese sich oft unter erheblicher Dickenzunahme. Sie stellt ein stark geschlängeltes, glänzendes, schmales Band dar, das nach aussen vom Ovarialstroma, nach dem Follikelraum zu von lockeren Spindelzellen und fein-fibrillärem Gewebe der eingewucherten Zellen der Theca externa begrenzt ist. Das zentrale Gewebe geht an der von dem hyalinen Band freien Seite — das Band ist nämlich nicht zu einem Kreise geschlossen — in das Ovarialstroma über. Die Membran kann ganz schwinden, so dass das Ganze nur schwer als Rest einer Follikelrückbildung erkannt wird. Fehlt eine Glasmembran, so wuchern die Zellen direkt von allen Seiten in den Follikelraum hinein, so dass sich ein allmählicher, mit zunehmender Gewebsverdichtung immer unauffälliger werdender Übergang in das Ovarialstroma bald ausbilden kann. Solche Formen sollen nach Sinéty (18) schon im Ovarium des Neugeborenen vorkommen.

Bei grösseren sich rückbildenden Follikeln fällt besonders die Wucherung der Zellen der Theca interna auf, die einer Art Luteinzellenschicht entspricht, wie beim Corpus luteum, ohne jedoch damit identisch zu sein. Es handelt sich hier nämlich um Bindegewebszellen. Das hyaline Band kann sich nun ausbilden, oder ein zentraler Bindegewebskörper ohne hyaline Umhüllung, der sich dann genau so wie bei kleinen Follikeln verhält. Die auf den zentralen Bindegewebskern folgende Schicht erweist sich durch ihre weiten Kapillaren und grossen, den Luteinzellen ähnlichen Thecazellen als ursprüngliche Theca interna. Die scheinbaren Luteinzellen sind entweder eingewanderte Thecazellen oder umgewandelte Stromazellen. Wenn sich der gefässlose Kern verdichtet, wird die Thecazellenschicht in den Kern zackenförmig eingezogen. Es bleibt ein zackiger, zentral fibrillärer, heller gefärbter gefässloser Körper mit einer in das Stromagewebe übergehenden Peripherie. Der Kern tritt schärfer hervor, wenn die Theca sich nur wenig an seinem Aufbau beteiligt. Beide letzteren Formen sind von Böshagen mit Corpus fibrosum bezeichnet worden, für die also das Fehlen der hyalinen Krause typisch ist. Beim Corpus fibrosum simplex können die Thecazellen später ganz verschwinden und eine hyaline Entartung der Fibrillen auftreten, die zentral im Längsdurchmesser, peripher in der Thecaschicht radiär verlaufen. Beim ausgebildeten Corpus fibrosum ist zwischen Kern und Stroma ein oft nur wenige Windungen grosses hyalines Band, dessen Breite der Dicke der übrigen Theca-interna-Schicht entspricht. Die Schicht ist aus dem hyalin verwandelten Gewebe der Theca interna entstanden. Diese Gebilde nennt Böshagen Corpora candicantia. Wenn die hyaline Krause sich später zusammenfaltet, bleibt schliesslich ein scharf abgesetzter hyaliner Körper, aus dem der frühere Bindegewebskern geschwunden ist. Die hyaline Substanz verrät durch scheinbare Luteinzellen und weite Kapillaren ihre Entstehung aus der umgewandelten Theca interna. Somit sind also die Unterschiede der verschiedenen Rückbildungsprodukte durch das Verhalten der Theca interna bedingt. Böshagen glaubt annehmen zu dürfen, dass solche Gebilde aus geplatzten und ungeplatzten Follikeln entstehen können.

Bei grösseren Resten der Corpora lutea vera, oder stark entwickelter Corpora lutea spuria ist der bindegewebige Kern

seltener ausschliesslich entwickelt. Er ist dann zentral mit Pigmentkörnern versehen, die nach Böshagen vom Blutfarbstoff einer Follikelblutung abstammen. Dieses Pigment nehmen auch Thecazellen unter Verlust ihrer Körncheneinlagerung auf. Einen solchen atretischen Follikel nennt Böshagen Corpus fibrosum hypertrophicans. Die viel häufiger unter Bildung eines hyalinen krausenartigen Bandes aus der übermächtig wuchernden Theca interna degenerierenden Follikel werden Corpora albicantia bezeichnet.

Im Zustande der Gravidität war die Rückbildung der Theca interna, sowie die zurückbleibenden luteinzellenartigen Gebilde besonders deutlich.

Mit der Umwandlung der Follikel sah Böshagen an normalen Eierstöcken häufig eine Veränderung der arteriellen Gefässe einhergehen. In diesen zu weit gewordenen Gefässen trat eine hyaline Degeneration der elastischen Elemente und Untergang der Muskelfasern der Media auf. Das Endothelrohr blieb erhalten, verengte sich und bekam eine engere und dünnere Media. Das neue Gefäss war nun umscheidet von dem hyalinen Rest des alten zu weit gewordenen Gefässes.

Im Anschluss an diese Literaturangaben möchte ich nun meine Ergebnisse beschreiben, um darzutun, dass die histologischen Vorgänge der Eirückbildung bei Rana esculenta dieselben sind, wie wir sie aus den Mitteilungen der erwähnten Autoren kennen. In Anbetracht des etwas ausführlichen Berichtes von Ruges und Bühlers Untersuchungen und der hinzugefügten Zeichnungen meiner Präparate werden die Übereinstimmungen der bekannten Resultate mit meinen Ergebnissen leicht ersichtlich sein. Es ist in meiner Arbeit versucht worden, die Aufeinanderfolge der Rückbildungsstadien an zeitlich bestimmten Präparaten von Tieren, die unter verschiedenen Bedingungen gehalten wurden, zu zeigen. Es soll betont werden, dass man auch am makroskopischem Präparat den Fortschritt der Eirückbildung verfolgen kann. Des weiteren sollen noch die Unterschiede beschrieben werden, die zwischen Ovarien von gefangen gehaltenen, gefütterten Tieren und entsprechenden Organen von in der Freiheit lebenden Fröschen bestehen.

Wie in der Einleitung schon angedeutet wurde, sind zu den Untersuchungen zwei Reihen von Weibchen der Rana escu-

lenta benutzt worden. Die erste Reihe befand sich bis Anfang Mai in einem grösseren Bassin im Freien. Von der zweiten Reihe wird später die Rede sein. Anfang Mai wurden die Frösche bei guter Fütterung in Gefangenschaft gehalten und an den im folgenden angegebenen Zeiten getötet. Die frisch entnommenen Ovarien wurden in konzentrierter wässeriger Sublimatlösung fixiert und in Paraffin eingebettet. Die Schnitte sind etwa 10 μ dick. Der Versuch der ersten Reihe wurde leider gestört durch Verunglücken einiger Präparate bei Renovierungsarbeiten im Laboratorium. Zur Färbung der mikroskopischen Präparate wurde Hämalaun und Eosin benutzt. Der Modus der Eirückbildung lässt sich leicht an einem Schema erläutern (siehe Textfigur).

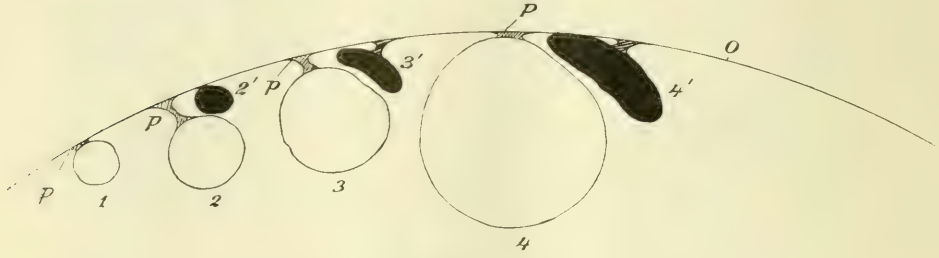


Fig. 1.

Ein Teil eines Eisackes von Rana. o = peritoneale Oberfläche: p = Verbindung des Eies mit dem Eisack: 1, 2, 3, 4 = progressive Stadien; 2', 3', 4' = regressive Stadien von Eiern.

Die hellen Eier der Zeichnung sollen heranreifende und die schwarzen sollen Rückbildungsstadien darstellen. Ei 4 möge ganz ausgereift sein. Es wird bei der unter der gegebenen Bedingung erfolgenden Rückbildung nacheinander die mit 4' bis 1' bezeichneten Stufen der Degeneration durchmachen. In der Zeit, in der die grossen reifen Eier nun rückgebildet werden, reifen die neugebildeten resp. die jüngeren Stadien in derselben Reihenfolge heran. Wenn also das reife Ei 4 auf dem Rückbildungsstadium 4' steht, wird das Ei 3 inzwischen zur Grösse des Eies 4 heranwachsend die völlige Reife erlangt haben und dann ebenfalls in den Zustand des Eies 4' geraten, während dieses bereits die Degenerationsstufe 3' erreicht hat. Indessen Ei 3 die Grösse von Ei 4 erlangt, wird Ei 2 die Ausdehnung von Ei 3, und Ei 1 die von Ei 2 einnehmen. Haben sämtliche Eier von der Grösse des Eies 1 ihre Entwicklung und anschliessend eventuell ihre

Degeneration durchgemacht, so wird wieder eine neue Entwicklungsperiode des Ovariums beginnen müssen, die sich anzeigt durch das Auftreten von ganz jungen Eiern von der Grösse des Eies 1. Es wird hiernach nicht schwer sein, eine Vorstellung von dem Zyklus der Regeneration und Degeneration nicht zur Ablage kommender Eier zu erhalten.

Der erste Frosch wurde getötet am 10. Mai. Auf einem Schnittpräparate des Ovariums[1]) findet sich ein Ei mit deutlichem Kern, der dem pigmentierten Teile der Peripherie näher liegt. Die Pigmentierung nimmt die Hälfte der Peripherie ein und verliert an beiden Enden, also gegen den grössten Durchmesser zu an Intensität. Die Zellen der Umhüllungen des Eies, des Peritoneums und der Granulosa, sind ausserordentlich stark abgeplattet, Zellgrenzen, sowohl der Endothelzellen des Peritoneums, als auch der Epithelien der Granulosa, sind nicht deutlich zu erkennen. An einzelnen Stellen des Peritonealüberzuges sind Blutgefässe quer getroffen, die einzige Andeutung einer Theca folliculi, von welcher Blutgefässe ja nur stammen können. Die Zellkerne beider Schichten sind stäbchenförmig in die Länge gezogen und intensiv gefärbt. Bei starker Vergrösserung zeigen sie noch tiefer gefärbte Kernkörperchen. An der dem animalen Pol gegenüberliegenden Stelle sind die Zellkerne etwas breiter und nicht so intensiv gefärbt. Die Zona pellucida ist in ihrem ganzen Umfang gleichmässig und deutlich zu sehen, ebenso wie ihre Porenkanälchen. Der Eikern hat einen gegen das Protoplasma sehr scharf abgesetzten Rand; dieser erscheint jedoch sehr unregelmässig durch starke Ausbuchtungen, in deren Nischen der Dotter hineinreicht. Die Grundsubstanz des Kerns ist homogen, mit äusserst zarter Körnelung und schwach bläulich gefärbt. In der Grundsubstanz fallen mehrere stark blau gefärbte, scharf umgrenzte, kugelige Gebilde von verschiedener Grösse auf. Der Dotter ist reichlich vorhanden in Form wohl ausgebildeter, scharf umgrenzter Plättchen. Am animalen Pol liegt das bereits erwähnte Pigment. Dass wir es hier mit einem gereiften, oder unmittelbar vor der Reife stehenden Ei zu tun haben, beweist die Pigmentation, der grosse Kern, das Vorhandensein der gut ausgebildeten Dotterkörner, die Abplattung der peripheren Zellen infolge vermehrter

[1]) Siehe Taf. I, Fig. 1.

Spannung durch Nahrungsaufnahme, und hauptsächlich die Grösse des Eies von etwa 1,5 mm Durchmesser.

Das ganze Ovarium enthält nun meist Eier von der beschriebenen Beschaffenheit. Ausser ihnen finden sich nur noch unreife Eier mit noch gänzlich undifferenziertem Dotter. Von Degeneration ist noch nirgends eine Spur zu sehen.

Makroskopisch ist das Organ in voller Ausbildung.[1]) Die stark gelappte Oberfläche sieht etwas verschleiert aus durch einen von Gefässen reichlich durchzogenen Bindegewebsüberzug. Schon bei der Betrachtung mit blossem Auge fallen besonders grosse, gelblich weisse und ebenso grosse, ganz oder zur Hälfte braun pigmentierte Eier von 1,5 mm Durchmesser auf. Es sind die dem beschriebenen mikroskopischen Präparat entsprechenden ausgereiften Eier, die teils pigmenthaltige, teils pigmentfreie Abschnitte der Oberfläche zugekehrt haben, und auf ihr leicht kugelige Unebenheiten hervorrufen. Ausser diesen grossen sieht man kleinere Eier, deren Grösse von 1,25—0,61 mm Durchmesser je nach dem Grade der Entwicklung in verschiedenem Verhältnis zur Grösse der erstgenannten steht. Dem entspricht auch die Intensität der Pigmentierung, indem der graubraune Ton der älteren stufenweise bis zum lichtgrauen Ton der kleineren Formen abnimmt. Da sie klein sind und in geringer Anzahl vorkommen, können sie erst bei Lupenvergrösserung genau gesehen werden. Sie dringen in das Innere des Eierstockes hinein und sind deshalb von der inneren Oberfläche aus besser zu übersehen. Die noch übrig bleibenden Zwischenräume, teilweise auch die Ränder der grossen Eier, sind besetzt von vollständig weissen jungen Eibildungsstadien. Sie sind bedeutend zahlreicher vertreten als alle anderen Stadien. Dem blossen Auge erscheinen sie als feine weisse Pünktchen und erst bei Lupenvergrösserung erkennt man ihre verschiedene Ausdehnung von 0,093—0,25 mm Durchmesser. Es sind die jüngsten Eier, die nach ihrer Entstehung an der Oberfläche allmählich unter Zunahme ihres Volumens in die Tiefe rücken und dort die Stadien der bereits erwähnten leicht pigmentierten Formen durchmachen, um mit zunehmender Reife wieder an der Oberfläche zu erscheinen. Makroskopisch sieht man dann noch vereinzelte intensiv schwarze

[1]) Siehe Taf. II, Fig. 9.

Pigmentfleckchen über die Oberfläche zerstreut, sie sind verschieden gross und teilweise mit strahligen Ausläufern versehen. Es sind pigmentierte Narben bereits atretisch gewordener Follikel, die noch einer vorhergehenden Generation degenerierter Eier angehören.

Betrachtet man ein solches Ovarium von innen, so sieht man zunächst nur grosse Eier mit ihren pigmentierten und pigmentfreien Flächen sich in den Sinus vorwölben und zwar derart, dass der grösste Teil ihres Umfanges in dem Sinus liegt.[1]) Präpariert man ein Läppchen heraus und entfaltet die Taschen, dann sieht man, besonders mikroskopisch, in bedeutend geringerer Anzahl bereits von der äusseren Oberfläche beschriebene Eier und zwar ebenfalls in ihrem grössten Umfange, während an der äusseren Oberfläche nur eine Kalotte der Kugel zu sehen war.

Bei der Durchmusterung des mikroskopischen Präparates eines Anfang Juni getöteten, allerdings nicht gefütterten Frosches aus einem Aquarium findet man in einem Schnitt ein Ei von zirka 0.71 mm Durchmesser, welches die ersten Spuren der Degeneration trägt und einen in der angeführten Literatur nicht beschriebenen Befund zeigt.[2]) Es soll deshalb zunächst berücksichtigt werden. Die noch nicht völlige Reife des Eies verrät sich durch die Formlosigkeit des Dotters und die Anordnung des Pigmentes um den Kern herum. Die Zellen des Peritonealepithels sind mässig flach. Die Granulosazellen dagegen grösser als an dem Ei vom 10. Mai, mit deutlichen Zellgrenzen und mit durch intensive Färbung, besonders der Kernkörperchen, ausgezeichnetem Kern versehen. Die Theca ist nur andeutungsweise zu erkennen. Die Zona pellucida hat nun die in der Literatur nicht erwähnte, merkwürdige Veränderung (siehe Taf. I, Fig. 2). Während sie in ihrem ganzen Umfange noch intakt ist und typische Struktur zeigt, findet sich an einer Stelle eine Kontinuitätstrennung. Dort hängen die Enden der Zone etwas in den Dotter hinein. Die Porenstruktur ist in der nächsten Umgebung verschwunden, und die äussersten Enden der Zona in Detritus zerfallen, der die trichterförmige Einziehung ausfüllt. Genau über der betreffenden Stelle sind die Granulosazellen grösser als die übrigen und lassen durch ihre Richtung die Neigung vermuten.

[1]) Siehe Taf. II, Fig. 10.

[2]) Siehe Taf. I, Fig. 2.

dass sie durch die Zerfallslücke der Zona in den Dotter einzudringen versuchen. Am Keimbläschen war nur stellenweise Undeutlichkeit der Grenze, keine sonstigen Veränderungen wahrzunehmen. Die anderen Eier des Präparates sind Stadien voller Reife ohne jede Veränderung, weiter kleinere unreife Eier, die aber im Vergleich zu dem Präparat vom 10. Mai entsprechend der fortgeschrittenen Zeit und trotz des Hungers grösser geworden sind. Bedeutend vermehrt sind die ganz kleinen jungen Eier. Im Gegensatz zum Ovarium vom 10. Mai stehen vereinzelte stark pigmentierte Bezirke von mehr oder weniger runder Begrenzung, dicht umlagert von den ganz jungen Eiern. Diese schwarzen, mikroskopisch fast nur aus zusammengedrängten Pigmentmassen bestehenden Eier sind zweifellos jüngeren Datums und offenbar der Ausdruck einer beschleunigten Atrophie infolge Futtermangels. Man muss nach diesem Befund annehmen, dass entgegen der Andeutung im Schema auch eine Rückbildung noch nicht ganz reifer Eier vorkommt. Das mag auch daran liegen, dass das Tier nicht gefüttert wurde, und die Abbauprodukte dieses bald reifen Eies zum Aufbau noch jüngerer Stadien verwandt wurden. Ein gleiches Verhalten fand Hans Heidkamp (19) bei weiblichen Tritonen. Danach werden bei diesen ebenfalls im Hungerzustand im Ovarium die jüngsten Geschlechtsprodukte erhalten auf Kosten der ganz oder zum Teil reifen Eier.

Wir haben also hier in unserem Präparat den mikroskopischen Befund anfänglicher Rückbildung eines heranreifenden Eies aus dem Ovarium eines Hungerfrosches.

Dem Vorstehenden gemäss muss auch makroskopisch das Ovarium von Anfang Juni im Vergleich zu dem vom 10. Mai ein entsprechend verändertes Aussehen haben.[1]) Es fehlt zunächst, was bei dem Futtermangel erklärlich ist, im Fettkörper das Fett. Die Oberfläche des Eierstockes ist aussen grau-weiss, übersät von feinen, weissen Pünktchen, den jungen weissen Eiern. Auf den Läppchen des Ovariums sind einige sehr grosse Eier von 1,5 mm Durchmesser zu sehen, rings umgeben von den kleinen pigmentlosen Eiern. Die übrigen grossen Eier erreichen nicht mehr diese Ausdehnung, wodurch das Ovarium auch im ganzen bedeutend kleiner geworden ist: da die grossen reifen Eier, wie

[1]) Siehe Taf. II, Fig. 11.

sie am 10. Mai vorhanden waren, natürlich den grössten Raum einnahmen. Die grossen Eier des vorliegenden Ovariums sind die in der Reife fortgeschrittenen, am 10 Mai eben angedeutet pigmentierten Eier. Ihr Durchmesser beträgt jetzt 1,39—1,24 mm. Sehr viel zahlreicher sind entsprechend der Feststellung im Schnittpräparat Eier mittlerer Grösse von 1,0 - 0,48 mm Durchmesser in allen Abstufungen der Pigmentierung. Die grössten weissen Eier haben fast die Grösse der eben pigmentierten Eier, etwa 0,37 mm Durchmesser. Auf der äusseren Oberfläche des Ovariums sind vereinzelte tiefschwarz pigmentierte Narben von ziemlicher Ausdehnung zerstreut. Sie stammen zum Teil von den zur Zeit des 10. Mai grössten reifen Eiern her. Die Narbenform mit ihren zackigen Ausläufern verrät eine relativ schnelle Resorption, die ja bei dem Futtermangel erklärlich ist. Die Zackenform kann nur dadurch entstehen, dass nach Aufhebung der Eiform das pigmenthaltige Bindegewebe sich im Stroma des Eierstockes auszubreiten beginnt.

Ein isoliertes, von innen präpariertes Läppchen, ergibt neben einem besseren Überblick über den Umfang der einzelnen Formen, dass die weniger stark pigmentierten Eier mittlerer Grösse von 0,622—0,77 mm Durchmesser an der äusseren Oberfläche in grösserer Anzahl zu sehen waren, da sie sich den Raum der wegfallenden grossen reifen Eier zunutze gemacht haben und so die meisten von ihnen an die Oberfläche getreten sind.

Den nächsten typischen Fortschritt in der Rückbildung zeigt ein Ovarium eines am 13. Juli getöteten, bis dahin gut gefütterten Frosches. Aus einer Schnittserie soll ein Ei von zirka 1,24 mm Durchmesser mit intensivem Pigment und geformten Dotterelementen beschrieben werden.[1]) Die Peritonealzellen sind sehr flach, die Granulosazellen etwas grösser und zwar am animalen Pol beträchtlich gewachsen. Sie sind an dieser Stelle auch tiefer gefärbt. Die Zellkerne sind dagegen heller als die an der Peripherie gelegenen Kerne des Peritonealepithels und haben verschiedene Form. In einiger Entfernung von der Peripherie des Eies liegt innen die ziemlich scharfe Grenze der Pigmentzone. Den Zwischenraum füllen die vergrösserten Granulosazellen aus. Ihre deutlichen Zellgrenzen passen sich gegenseitig an; nach dem

[1]) Siehe Taf. I, Fig. 3.

Dotter zu entsenden sie stumpfe Fortsätze. Das hellblau gefärbte Protoplasma ist mit tiefblauen, formlosen Massen angefüllt, die als resorbierter und noch nicht vollständig verflüssigter Dotter aufzufassen sind. Ausser diesen konfluierten Massen enthält das Protoplasma wenig körniges Pigment. Die Zellkerne sind gross, oval und mit ihrer Längsachse nach dem Dotter zu gerichtet. Das Kernkörperchen ist tiefblau gefärbt und die Grenze des Kerns mit ebenso stark gefärbten Chromatinanhäufungen versehen. Die Zona pellucida ist vollständig verschwunden. Der Eikern wurde nicht gefunden. Der Fortschritt der Rückbildung im Vergleich zu dem Präparat vom Juni besteht also in völligem Schwund der Zona und fortgeschrittener Vergrösserung der Granulosazellen. Letztere zeigen hier deutliche Neigung in den Dotter vorzudringen. Die äussersten Teile von Dotter und Pigment haben sie teilweise schon aufgenommen.

Eine andere Schnittserie desselben Ovariums enthält ein Ei von zirka 1,24 mm Durchmesser, welches viele Ähnlichkeit mit dem letzten Ei hat.[1]) In der Mitte desselben liegt noch ein kleiner Rest heller gefärbten ungeformten Dotters; demnach scheint es noch nicht ganz reif zu sein. Peripher sind nur noch flache Peritonealepithelzellen. Die Granulosazellen haben dagegen bereits sämtlich die äussersten Teile des Dotters eingenommen. Deutlich sieht man von ihnen nur noch einen blassen grossen, peripher mit Chromatinanhäufungen versehenen Kern. Die nicht mehr scharf begrenzte Fläche des zugehörigen Protoplasmas enthält erhaltene, normale Dotterplättchen und Zerfallsprodukte von solchen. Pigment war an dieser Stelle in den Granulosazellen nicht vorhanden, weil sie dem aninalen Pol gegenüber, also an der pigmentlosen Eihälfte lagen.

Dicht neben diesem Ei lag ein allerdings in gehärtetem Zustande in seiner Form stark verändertes, d. h. nicht mehr rundes Ei von schätzungsweise 0,62 mm Durchmesser.[2]) Dasselbe muss, den wohl geformten Dotterplättchen nach zu schliessen, den Zustand voller Reife wohl durchgemacht haben. Es erklärt sich daher seine nicht mehr runde Form auch als Folge der veränderten inneren Struktur, die wieder eine Kompression seitens

[1]) Siehe Taf. I, Fig. 4.
[2]) Siehe Taf. I, Fig. 6.

der benachbarten heranwachsenden Eier in dieser Form zustande kommen liess. Auffallend an diesem Ei ist eine periphere, durch Vacuolenbildung ausgezeichnete Zone. Sie setzt sich zusammen aus Komplexen, die den Grenzen der vergrösserten Granulosazellkörper entsprechen und einen deutlichen Kern besitzen. Ein sich weit in den Dotter erstreckender Protoplasmafortsatz verleiht der ganzen Granulosazelle die Form eines Keiles. Die eigentümliche Vacuolisierung des Protoplasmas ist wahrscheinlich durch Auflösung und chemische Veränderung von Dotter entstanden. Die aufgelösten farblosen, und nunmehr als Vacuolen erscheinenden Massen haben das aufgenommene Pigment zur Seite gedrängt und ihm ein der Zeichnung entsprechendes lückenhaftes Aussehen verliehen. Es finden sich in den Zellen auch noch unversehrte Dotterkörner und formlose aber noch färbbare Zerfallsprodukte vor. Entsprechend der Verkleinerung des Eies haben die Peritonealzellen an Ausdehnung zugenommen. Ein Überblick über das ganze Präparat zeigt, dass die drei zuletzt beschriebenen Formen reichlich vertreten sind. Ausser ihnen sind zahlreiche grosse, der Reife entgegengehende Eier vorhanden; vereinzelt sind kleine schwarze Eier von untypischer, fast verzerrter Form mit Spuren von Dotter, hauptsächlich aber aus Pigment bestehend. Sie machen durch ihre zahlreichen Vacuolen den Eindruck eines Wabenwerkes. Selbstverständlich ist hier der Rückbildungsprozess schon bedeutend weiter fortgeschritten, als wir das soeben beschrieben haben. Reichlich finden sich unreife Eier mittlerer Grösse, während die ganz kleinen an Zahl gegen früher zurückstehen, da sie mittlerweile an Ausdehnung zugenommen haben, und somit die Zahl der mittelgrossen Eier grösser erscheinen lassen.

Das makroskopische Präparat vom 13. Juli ging leider verloren.

Enthielt das letzt beschriebene Ei des mikroskopischen Präparates vom 13. Juli in seiner Mitte noch reichlich unversehrten Dotter, so finden wir diesen nicht mehr in vielen Eiern des am 16. Juli getöteten, und bis dahin gefütterten Frosches. Eines dieser Eier mit auffallendem Fortschritt der Rückbildung ist gezeichnet. Wir haben hier zum ersten Mal das Auftreten zahlreicher Blutgefässquerschnitte im Ei selbst. Das Ei ist im Vergleich zu dem vom 13. Juli verkleinert. Auf der Schnittserie hat es etwa 0,77 mm Durchmesser. Ein kleiner Teil von der

Peripherie des Eies ist auf der beigefügten Zeichnung[1]) wiedergegeben. Das Peritonealepithel hat fast in seiner ganzen Ausdehnung vergrösserte Zellen mit vergrösserten Zellkernen und weist zahlreiche mit roten Blutkörperchen gefüllte Blutgefässquerschnitte auf. In der Fig. 6 sieht man ein solches Blutgefäss und einen nahe der Peripherie gelegenen Granulosazellkern.

An einzelnen Stellen sind zwischen Dotter und Epithel Zellanhäufungen mehr bindegewebigen Charakters. Das ganze Eiinnere[2]) ist von einem durch Vacuolenbildung maschenartig geformten Pigmentnetz angefüllt, das stellenweise intensiv dunkle Pigmentanhäufungen zeigt. In dieses Netzwerk sind die oben schon erwähnten, zahlreichen Blutgefässquerschnitte mit roten Blutkörperchen und deutlich erkennbarem Endothel eingelagert. Ebenfalls kommen in dem Schnitt sehr zahlreiche Granulosazellkerne zerstreut vor: besonders dicht sind sie um die Blutgefässe herum angeordnet. Es ist jedoch nicht mit Sicherheit zu entscheiden, ob nicht einige von den Zellkernen von den mit den Blutgefässen eingewanderten Bindegewebszellen stammen, die durch Aufnahme des reichlich vorhandenen Nährmaterials eine den Granulosazellen entsprechende Grösse angenommen haben. Die Protoplasmaleiber der Zellen sind nirgends mehr abzugrenzen. Viele Kerne tragen Zeichen des Unterganges, bestehend in Abnahme des Färbungsvermögens, Verlust der scharfen Grenze und körnigem Zerfall der Kernsubstanz. Die Dotterplättchen sind sämtlich verschwunden bis auf einige wenige, und nur noch kleine Reste ihrer Zerfallsprodukte sind geblieben.[3]) Gelegentlich liegt noch ein Dotterplättchen in einer Vacuole. In diesem Ei handelt es sich also hauptsächlich noch um die Wegschaffung des Pigmentes und des Vacuoleninhalts, wozu offenbar die in den Dotter eingewachsenen Gefässe berufen sind. Im übrigen findet sich auf dem Schnitt kein normales ausgereiftes Ei mehr. Die übrigen Eier haben den Zustand der Reife schon durchgemacht und tragen Zeichen der Degeneration, die teilweise schon so weit fortgeschritten ist, wie in dem Präparat vom 13. Juli.

[1]) Siehe Taf. I, Fig. 7.
[2]) Siehe Taf. I, Fig. 8.
[3]) Siehe Taf. I, Fig. 7.

Hiermit stimmt das zugehörige makroskopische Präparat überein.[1]) Der gefässführende bindegewebige Überzug ist stärker entwickelt. An der äusseren Oberfläche liegen nur noch ganz vereinzelt grosse Eier mit ihrer pigmentierten oder pigmentfreien Seite von 1,39 mm Durchmesser. Sie entsprechen im mikroskopischen Bild den Eiern, die die Reife überstanden und bereits durch beginnende Degeneration an Grösse eingebüsst haben, wie aus der beigefügten Zeichnung ersichtlich ist. Bei Lupenvergrösserung werden kleinere Eier von 0,73— 1 mm Durchmesser in weit grösserer Anzahl sichtbar. Einzelne von ihnen sind braun, die meisten hellbraun pigmentiert. Sie sind aufzufassen als die Formen, welche dem mikroskopisch beschriebenen und gezeichneten Ei entsprechen. Die dunkle Färbung erklärt sich durch die bei der Volumabnahme erfolgende Verdichtung des Pigmentes. Der grösste Teil der Oberfläche wird eingenommen von hellgelb pigmentierten Eiern von 0,46—0,62 mm Durchmesser und von ganz weissen Eiern, die hier weit zahlreicher sind als in dem Präparat vom 10. Mai und grösstenteils auch reifer geworden sind. Ihre Durchmesser betragen 0,15—0,62 mm. Die pigmentierten Narben stehen ziemlich dicht beieinander, sie sind ebenfalls weit grösser als in dem Ovarium vom 10. Mai. Viele von ihnen haben auch eine mehr rundliche, also Eiform, entsprechend den stark atretischen Eiern mit scholligem Pigment, wie wir sie im mikroskopischen Bilde sahen.

Von der Innenfläche des Ovariums gesehen, muss man die von der äusseren Oberfläche her bekannten, vereinzelt stehenden Eier mit dunkelbrauner Pigmentierung als reife Eier beurteilen. Ihr Durchmesser beträgt, wie bei ausgereiften Eiern, 1,5 mm. Sie erscheinen auch in grösserer Anzahl, weil sie an der äusseren Oberfläche durch mittelgrosse und hauptsächlich kleine Eier verdeckt waren. Auch die kleineren tief braun pigmentierten Eier sind an der inneren Oberfläche zahlreicher zu sehen. Wie schon oben gesagt, ist ihr Durchmesser 0,77—1,0 mm gross. Über die Zahl und Grösse der ganz weissen und der eben pigmentierten Eier kann man sich an der äusseren Oberfläche am besten orientieren. An der inneren Oberfläche kommen sie nur in den Lücken zwischen den grossen Eiern zum Vorschein.

[1]) Siehe Taf. II, Fig. 12.

Einzuschalten wäre an dieser Stelle die Beschreibung eines mikroskopischen Präparates von einem am 24. Juli getöteten, nicht gefütterten Frosch mit bedeutend vorgeschrittenen Rückbildungserscheinungen. Bemerkenswert ist ein Ei des Präparates deshalb, weil es einen Zustand mehr anfänglicher Veränderungen zeigt und etwa auf die im Ei vom 13. Juli, oben Seite 19 genauer beschriebene Degenerationsstufe folgt.[1]) Es hat in seiner ganzen Peripherie deutliche flache Peritonealzellen mit schmalen Kernen. Stellenweise sieht man flache Abhebungen, die sich bei genauer Untersuchung als Blutgefässe erweisen. Unter diesem Epithel folgen besonders dort, wo das Ei mit der Wand des Ovariums in Verbindung steht, Zellen mit etwas undeutlichem Zellkörper und kleinen, teils spindeligen, teils runden Kernen. Ob das bindegewebige Elemente sind, ist nicht ohne weiteres klar. Ziemlich deutlich abgegrenzt von diesen Zellen folgt eine Schicht, die aus den Zellen der Granulosa hervorgegangen ist. Die Zellen liegen dicht beieinander und zwar stellenweise in mehreren Lagen. Auffallend ist an ihnen die verschiedene Lage und Grösse der deutlich hervortretenden Kerne. Man sieht Kernformen von länglich ovaler, rundlicher und keulenförmiger Gestalt, die sich der Zellform anpasst. Die reichlich mit körnigem Pigment versehenen Zellkörper sind langgestreckt und haben äusserst feine, in das Eiinnere sich hineinerstreckende Protoplasmafortsätze. Diese länglich ausgezogene Gestalt haben auch die bereits in den Dotter vorgerückten Zellen der tieferen Schichten. Das ganze Eiinnere ist von körnigem Pigment erfüllt, welches wieder unterbrochen ist von teils ganz hellen, farblosen, teils hell rötlichen undeutlich begrenzten Ansammlungen, deren eine grössere ebenfalls rötlich gefärbte im Zentrum des Eies liegt. Es sind die Reste veränderten Dotters. Das Präparat führt also das weitere Verhalten der am 13. Juli noch mehr kubisch gestalteten Granulosazellen mit Andeutungen stumpfer Fortsätze vor Augen, das in einer nach dem Eiinneren zustrebenden Gestaltsveränderung der Zelle mit Ausbildung lang ausgezogener Protoplasmafortsätze seinen Ausdruck findet. Da das Ei von einem Hungertier stammt, so ist anzunehmen, dass es seine Reife noch nicht lange überstanden hat, und nun wieder zur Er-

[1]) Siehe Taf. I, Fig. 5.

haltung jüngster Eier durch erhöhte Schnelligkeit der Degeneration seine Abbauprodukte nutzbar macht. Auf dem als Vorlage dienenden Schnitt sind mehrere Eier der beschriebenen Art vertreten. Der Mangel an Futter äussert sich auch wieder in der auffallend grossen Zahl ganz schwarzer, d. h. nur aus zusammengeballtem Pigment bestehender Eier, die fast ebenso zahlreich sind, wie die halbgrossen Regenerationsprodukte. Die ganz jungen Eier sind indessen spärlich.

Das zugehörige makroskopische Präparat hat von allen bis jetzt betrachteten Eierstöcken die dunkelste Färbung, infolge zahlreicher schwarzer Punkte, die von pigmentierten Eiern oder pigmenthaltigen Narben herrühren.[1]) Das ganze Ovarium, sowie die einzelnen Läppchen sind stark verkleinert. In jedem Läppchen sind ungefähr 5—7, etwa 0,73 mm Durchmesser messende hellbraune, also eben pigmentierte, heranreifende Eier. Die Lupenbetrachtung der zahlreichen, an der Oberfläche inselförmig angeordneten weissen Eier von 0,12—0,36 mm Durchmesser lässt keinen Zweifel darüber bestehen, dass sich das Ovarium trotz der Rückbildungserscheinungen zugleich auch in einem regenerativen Zustand befindet; denn diese hellen Eier sind sämtlich gewachsen bis zu den grössten mit 0,4 mm Durchmesser, mit lichtbräunlicher Pigmentierung. Die Regeneration ist aber beträchtlich hinter der des Ovariums vom 16. Juli, welches von einem gefütterten Tier stammt, zurückgeblieben. Das wird noch besonders klar aus der Betrachtung eines Ovariums eines am 24. Juli getöteten aber gefütterten Frosches hervorgehen.

Histologisch finden wir darin einige Rückbildungsformen von fast derselben Stufe, wie von dem am 24. Juli getöteten nicht gefütterten Tier. Es überwiegen aber im vorliegenden Präparate an Zahl die mittelgrossen und ganz kleinen Eier. Den weniger rasch vorgeschrittenen Rückbildungsprozess ersieht man besonders gut aus der bedeutend geringeren Anzahl der aus zusammengeballtem Pigment bestehenden Eier.

Das makroskopische Präparat von diesem Tier ist sehr klein.[2]) Grosse pigmentierte Eier reifen Stadiums fehlen ganz. Die grössten Eier von zirka 0,73 mm Durchmesser, deren in jedem Läppchen nur wenige vorhanden sind, haben nur Andeutung

[1]) Siehe Taf. II, Fig. 13.

[2]) Siehe Taf. II, Fig. 14.

von Pigment. Noch blasser als diese sind alle mittelgrossen Eier von zirka 0,31 mm Durchmesser bis zu den grössten weissen. Letztere liegen in Grössen von 0,3—1,12 mm Durchmesser vor. Die äussere Oberfläche erscheint schwarz punktiert, was durch die in jedem Läppchen ziemlich zahlreich vorhandenen mittelgrossen, tiefschwarz pigmentierten Eier verursacht wird. Sie sind aber nicht so zahlreich wie in dem Ovarium von dem nicht gefütterten Frosch. Die unzähligen, meist grösser gewordenen weissen Eier lassen diese dunklen Stellen wie auf einer hellgrauen Unterlage erscheinen.

Die Grössenverhältnisse lassen sich am besten von der inneren Oberfläche aus beurteilen. Man erkennt sehr leicht die vereinzelten grössten hellbraunen Eier von etwa 0,73 mm Durchmesser. Andere von annähernd derselben Grösse bis zu 0,31 mm Durchmesser haben, wie man auch von aussen sehen konnte, eben angedeutetes Pigment. Von da ab sind die Eier bis zu den kleinsten von 0,1 mm Durchmesser, welche aber an Zahl viel geringer sind als in den früheren Präparaten gefütterter Tiere, ganz weiss. Diese Eier stehen aber dichter zusammen, da sie den durch Resorption geschaffenen Raum auszunutzen bestrebt sind.

Die beschriebenen Gegensätze im Verhalten der Eirückbildung hatten sich ergeben aus der Untersuchung von Fröschen, die in der Gefangenschaft gefüttert und von Tieren, die nicht gefüttert waren. Es erübrigte, einen Vergleich anzustellen zwischen der Eirückbildung gefangen gehaltener gefütterter Tiere und solcher, die bis zu dem Tage, an dem sie getötet wurden, in voller Freiheit lebten. Es liessen sich in der Tat auch hier erhebliche Unterschiede, und zwar besonders gut an makroskopischen Präparaten erkennen. Da die mikroskopischen Bilder hinreichend beschrieben sind, wird an dieser Stelle darauf nicht weiter eingegangen.

Mitte Mai wurden drei Frösche gefangen gesetzt und jeden zweiten bis dritten Tag mit frischem Fleisch gefüttert. Im Abstand von etwa vierzehn Tagen bis drei Wochen wurde eines der gefangenen und zugleich ein direkt im Freien gefangenes Tier getötet. Die Beschreibung der untersuchten Organe folgt entsprechend dem zeitlichen Verlauf des Versuches und wird durch Zeichnungen, die sowohl von der Aussen- als auch von der Innenseite mittels des Winkelschen Zeichenapparates bei einer Vergrösserung von ×7,5 aufgenommen sind, erläutert werden.

Die Figuren sind mehr projiziert als körperlich gezeichnet, weil es sonst schwer war, die verschiedene Stärke der Pigmentierung durch Bleistiftzeichnung zum Ausdruck zu bringen. Die Stärke der Pigmentierung ist nämlich, wie sich zeigen wird, für die Erkennung des Zustandes der Eier von grosser Bedeutung. Sämtliche Präparate wurden lebensfrisch in konzentrierter Lösung von Sublimat in physiologischer Kochsalzlösung etwa $^3/_4$—1 Stunde fixiert, nachdem sie vorher mittels einer feinen Kanüle aufgebläht waren, wodurch es gelang, die tiefen Falten übersichtlich auseinander zu breiten. Dann wurden die Objekte zur Konservierung in 80 proz. Alkohol vorbereitet. Diese Methode der Fixierung und Präparation hatte M. Nussbaum schon vor vielen Jahren bei seinen Untersuchungen über die Ovarien der Frösche angewandt.

Der erste Frosch der zweiten Untersuchungsreihe war gefangen am 16. Mai und wog 34,6 g. Nach guter und regelmässiger Fütterung wurde er am 24. Mai getötet. Sein Gewicht betrug jetzt 37,6 g. Der Gewichtszunahme entsprach auch ein gut ausgebildeter Fettkörper. Die äussere Oberfläche des wohl entwickelten Ovariums trug hauptsächlich reife ausgewachsene Eier von 1,5 mm Durchmesser, die zum Teil ihre ganze pigmentierte Hälfte nach der äusseren Oberfläche gewandt hatten.[1]) Ausser diesen sind zahlreiche Eier vorhanden von etwa 0,93 bis 0,31 mm Durchmesser mit eben angedeuteter, aber je nach ihrer Grösse verschieden starker Pigmentierung. Viel zahlreicher sind ganz kleine Eier von 0,31—0,06 mm Durchmesser, ohne jede Spur von Pigment, teilweise zu mehreren der Oberfläche der grossen Eier aufsitzend. Diese offenbar jüngsten Stadien, sowie die vorher genannten, mittelgrossen Eier rücken bei der weiteren Reifung in die Tiefe des Ovariums, um dann als ausgereifte Formen mit halb pigmentierter Oberfläche an der Oberfläche des Ovariums wieder zu erscheinen.

Von der inneren Oberfläche aus gesehen sind die ganz kleinen Eier nur noch selten zu finden.[2]) Sie haben sich ja eben erst an der äusseren Oberfläche entwickelt. Schön sieht man von innen die mittelgrossen und reifen Eier. Besonders letztere erscheinen grösser als an der äusseren Oberfläche, weil man dort, wie schon gesagt, nur einen Teil ihres Umfanges sieht. Die

[1]) Siehe Taf. II, Fig. 15.

[2]) Siehe Taf. II, Fig. 16.

mittleren Formen haben dieselbe Grösse wie an der äusseren Oberfläche, aber teilweise bereits dunkler pigmentierte Teile, als das von aussen her zu sehen war.

In einem zur Verfügung stehenden Ovarium einer am 12. Mai getöteten Rana esculenta hungarica aus der Gefangenschaft sind viele grosse, halb pigmentierte, meist ausgereifte Eier von 1,5 mm Durchmesser. Nur einige von den grossen sind etwas kleiner, etwa von 1,3 mm Durchmesser, also noch nicht ganz reif.[1]) Sehr zahlreich sind die Eier mittlerer und kleinster Grösse von 0,62 bis 0,09 mm Durchmesser, alle ohne Andeutung einer Pigmentierung, also alles noch sehr junge Formen. Im Gesichtsfeld liegen noch zwei sehr schwarz pigmentierte Eier mittlerer Grösse. Sie sind im Zustand der Degeneration. Die dunkle Pigmentierung rührt von der Zusammenziehung eines ehemals reifen und grossen Eies auf eine kleine Oberfläche. Reste vollständig untergegangener Eier sind an einigen Stellen noch als fleckige, tiefschwarze Pigmentpünktchen und Narben zu sehen. Man muss hiernach annehmen, dass das Tier schon zur Zeit seiner letzten Laichperiode in Gefangenschaft war, so dass die erwähnten Degenerationsstadien die letzten Reste dieser Laichperiode sind, während das Ovarium im übrigen einer neuen Entwicklung entgegengeht. Im Vergleich hierzu hatte das Ovarium vom 24. Mai keine Spur einer Degeneration aufzuweisen, obschon es von einem bedeutend später getöteten Tier stammt. Es lag bei dem Tier auch gar keine Ursache für eine Degeneration vor, weil es bis dahin in der Freiheit gelebt hatte, und sicher genug Nahrung gefunden hat, was man aus dem wohl entwickelten Fettkörper schliessen muss.

Der zweite Frosch war gefangen am 7. Mai und wog 36,2 g. Als er am 1. Juli getötet wurde, betrug sein Gewicht nur noch 31,3 g. Er hatte also trotz guter Fütterung abgenommen. Der Magen war bei der Sektion noch ganz gefüllt von der letzten Fütterung her, die am 28. Juni stattfand. Der ganze Ernährungszustand des Tieres war aber kein besonders guter; die Leber war klein, die Muskulatur mager, im Fettkörper war fast gar kein Fett vorhanden. Das Ovarium dieses Tieres bietet nun ein sehr verändertes Bild gegenüber dem vom 24. Mai.[2]) Das ganze Organ ist zunächst bedeutend verkleinert. An der äusseren

[1]) Siehe Taf. II, Fig. 17.

[2]) Siehe Taf. II, Fig. 18.

Oberfläche treten grosse Eier von 1,24—1,39 mm Durchmesser dicht zusammengedrängt, hervor. Die mittelgrossen Eier sind bedeutend herangewachsen bis auf 0,77 mm Durchmesser und sie sind zahlreicher geworden, als in dem Ovarium vom 24. Mai. Deshalb liegen sie auch nicht mehr zerstreut, sondern inselförmig zusammengedrängt zwischen und auf den grösseren Eiern. Man sieht mehrere Pigmentnarben der verschiedensten Form und Grösse, sowie noch eirunde Pigmentmassen über das Ovarium verstreut. Diese letzteren sind die Reste der zuerst untergegangenen Eier, d. h. jener, die am 24. Mai in voller Ausbildung vorlagen. Die runden schwarzen Pigmentmassen sind noch als Eier zu betrachten mit zu Schollen konfluiertem Pigment, während die strahligen Pigmentflecke in die Breite gezogene Narben sind, die sich in dieser Form auch nur an der äusseren Oberfläche finden. Die Art ihrer Entstehung geht aus Ruges Untersuchungen und meinen oben mitgeteilten mikroskopischen Befunden hervor.

An der Innenseite des Eierstockes sieht man dieselben Formen, wie sie von der äusseren Oberfläche beschrieben sind, jedoch nicht so stark zusammengedrängt, und daher übersichtlicher.[1]) Grosse und mittelgrosse Eier sieht man in ihrem ganzen Umfange, die kleinen Eier nur dort, wo sie in den Zwischenräumen durchscheinen. Die Pigmenteier mittlerer Grösse sind etwa ebenso zahlreich und deutlich zu sehen, wie an der äusseren Oberfläche, die Pigmentnarben hingegen nur dort durchscheinend, wo sie gerade in die Zwischenräume fallen. Aus der grossen Zahl der Pigmentgebilde muss man schliessen, dass der Rückbildungsprozess bereits sehr weit vorgeschritten ist, was bei der langen zwischen dem 24. Mai und dem 1. Juli gelegenen Zeit verständlich ist und andererseits aus der Gewichtsabnahme des gut gefütterten Tieres hervorgeht.

Die Rückbildung des Eierstockes erklärt nun nicht ganz den Gewichtsverlust. Dieser ist einerseits im Verhältnis zu gross, andererseits hatte das Tier noch Zeichen von Atrophie anderer Organe. Die erwähnte Schwäche der Muskulatur liesse sich schon als Inaktivitätsatrophie erklären, da die gefangenen Tiere sämtlich einzeln in Gläsern von etwa einem Liter Inhalt gehalten waren.

[1]) Siehe Taf. II, Fig. 19.

wo die Bewegungsmöglichkeit dieser sonst sehr lebhaften Tiere mehr beschränkt ist als in einem Aquarium, wo der Fütterungsversuch meist Gewichtszunahme bewirkt. Es muss dabei natürlich auch die Intensität des Stoffwechsels leiden, was sich in der erwähnten Verkleinerung der Leber und der mangelhaften Ausbildung des Fettkörpers äussert. Ferner weiss man nicht, inwieweit die Tiere durch die zur Zeit des Versuches herrschende hohe Aussentemperatur Schaden genommen haben. Das Tier war also aus irgend einem Grunde nicht ganz normal.

Vergleichen wir hiermit nun ein Ovarium eines frisch gefangenen Tieres.[1]) Am 10. Juli wurde ein am 8. Juli frisch gefangener Frosch getötet. Derselbe war vorzüglich ernährt, und hatte einen gut entwickelten Fettkörper. Das Ovarium war, verglichen mit einem reifen Organ, bedeutend verkleinert. Das erklärt sich daher, dass der Frosch seine reifen Eier ablegen konnte. Ohne Lupe sieht das Ovarium hellgrau aus, ist übersät von weissen und hellbraunen Pünktchen, zwischen denen einzelne tief schwarze hervortreten. Mit Lupenvergrösserung findet man entsprechend der Zeichnung, die hier der Deutlichkeit halber bei 12,5facher Vergrösserung angefertigt wurde, die grossen pigmentierten reifen Eier nicht mehr wieder, weil der Frosch sie bereits abgelegt hat. Am weitesten fortgeschritten in ihrer Entwicklung sind hellbraun pigmentierte Eier von 0,93—0,73 mm Durchmesser. Dann finden sich in geringer Anzahl kleinere Formen mit ganz leichter Pigmentierung. Recht zahlreich sind aber die pigmentlosen Eier, deren grösste mit eben angedeutetem Pigment den Übergang zu den reifenden Stadien bilden. Es fragt sich nun, woher die vereinzelten ganz schwarzen Eier von 0,77—0,31 mm Durchmesser kommen. Dieselben treten auf der Zeichnung wegen der gewählten Vergrösserung etwas sehr stark hervor. Bei den gefangen gehaltenen Fröschen waren es zweifellos nicht abgelegte rückgebildete Eier. Dieser Frosch konnte aber seine Eier ablegen und hat das auch getan, denn sonst müssten die dunklen Eier viel zahlreicher vorhanden sein. Sie sind tatsächlich aber lange nicht so zahlreich, wie bei dem gefangen gehaltenen Frosch vom 1. Juli, dessen gesamte reife Eier der Degeneration verfielen. Die schwarzen Eier sind in Wirklichkeit kleiner wie reife Eier.

[1]) Siehe Taf. II, Fig. 20.

die ja niemals über die ganze Eiperipherie und nie so tief schwarz pigmentiert sind. Es bleibt daher nichts anderes übrig, als anzunehmen, dass diese schwarzen Eier aus irgend einem unbekannten Grunde zur Brunstzeit nicht abgelegt werden konnten, und daher dasselbe Schicksal erfahren haben, wie die Eier eines gefangen gehaltenen Frosches. Den Einfluss der Freiheit auf das Wachstum des Ovariums erkennt man deutlich an der sehr grossen Anzahl junger Eier.

Sehen wir uns das Ovarium von der Innenseite an — die beigegebene Tafelfig. 14 hat wieder 7,5fache Vergrösserung — so haben wir noch mehr den Eindruck eines sich stark regenerierenden Organs.[1]) Deutlicher als an der Aussenfläche übersieht man die hellbraun pigmentierten Eier. Sie haben ungefähr alle dieselbe Grösse. Desgleichen erkennt man mit voller Deutlichkeit die leicht pigmentierten und die zahlreichen, in den Lücken liegenden weissen Eier. Weniger gut sieht man von innen her die schwarzen Eier, man erblickt eben nur den kleineren, in die Zwischenräume fallenden Teil ihrer Oberfläche. Vor dem Beginn der Rückbildung gehörten sie bereits ausgereiften Eiern der äusseren Oberfläche an.

Wir kommen nun zur Beschreibung des letzten Vergleichsobjektes, welches uns mit aller wünschenswerten Deutlichkeit den Einfluss der Gefangenschaft im Vergleich zur Freiheit auf das Wachstum des Ovariums einer Rana esculenta zeigt.

Ein am 27. Mai gefangener und 51,7 g wiegender Frosch wurde am 31. Juli getötet, und hatte eine Schwere von nur noch 32,5 g. Das Tier war in schlechtem Ernährungszustand und besass einen kleinen Fettkörper, trotzdem es ebenso, wie das vorige am 1. Juli getötete, gut gefüttert worden war. Der Gewichtsverlust ist zum grossen Teil, wie aus folgendem hervorgehen wird, der weitgehenden Degeneration des Ovariums zuzuschreiben. Für die Beeinträchtigung des Ernährungszustandes sind jedoch dieselben störenden Umstände verantwortlich zu machen, die bei dem Hungerfrosch vom 1. Juli wahrscheinlich die starke Gewichtsabnahme verursacht haben. Beide Tiere waren nämlich denselben Schädlichkeiten ausgesetzt. Das Ovarium ist sehr klein und rückgebildet, während es zu Anfang des Versuches durch

[1]) Siehe Taf. II, Fig. 21.

seine Grösse eine starke Auftreibung der Bauchwände des Frosches hervorrief.[1]) Die Oberfläche ist dunkelgrau und besitzt eine etwa gleiche Anzahl weisser und schwarzer Pünktchen. Mit schwachen Vergrösserungen sieht man nichts mehr von reifen Eiern. Hellbraune, der Reife schon näher stehende Eier, von durchschnittlich 0.62 mm Durchmesser, sind in einer dem Vorsprung der Zeit entsprechend grösseren Anzahl vorhanden als in dem Ovarium vom 1. Juli, haben aber nicht ganz deren Grösse erreicht, wie aus einem Vergleich der Zeichnungen hervorgeht. Dagegen sind mehr weisse Eier grösserer Form in das Übergangsstadium, also nicht eben sichtbarer Pigmentierung eingetreten. Sie haben eine Grösse von etwa 0.73 mm Durchmesser erreicht. Zahlreiche Inseln ganz junger pigmentloser Eier enthalten Eier, wie sie in dieser Kleinheit in dem Ovarium vom 1. Juli nicht vertreten waren. Der Durchmesser der kleinsten beträgt 0.04 mm. Wir treffen sie also hier zum ersten Mal und müssen sie als die Anfangsstadien einer neuen Bildungsperiode ansprechen. In noch keinem Präparat haben wir bisher so viele schwarze verkleinerte Eier gefunden. Aus der beigefügten Zeichnung ist zu ersehen, dass sie viel zahlreicher sind als in dem Ovarium vom 1. Juli. Ihrer meist gut erhaltenen eirunden Form nach, die auch in dem Präparat vom 1. Juli vorherrscht, muss man schliessen, dass sie die Reste der in der Zwischenzeit vom 1. Juli bis 31. Juli zur Reife gelangten und wieder rückgebildeten Eier sind. Einige versprengte Pigmentpartien sind als die letzten Überbleibsel der am 1. Juli noch grossen Pigmenteier zu betrachten.

Die Innenfläche des Ovariums führt fast dasselbe Bild vor Augen.[2]) Man sieht schwarze und reifende Eier mittlerer Grösse in annähernd gleicher Anzahl, während die kleinsten Eier nur in den Lücken durchschimmern.

Mit diesem Produkt weit fortgeschrittener Rückbildung müssen wir nun ein Ovarium eines am 30. Juli frisch gefangenen und am 31. Juli getöteten Frosches vergleichen.[3]) Das Tier war wieder, wie auch die anderen Frösche aus der Freiheit, in vorzüglichem Ernährungszustand und mit einem grossen Fettkörper ausgestattet. Von dem Eierstock hat man makroskopisch den

[1]) Siehe Taf. III, Fig. 22.
[2]) Siehe Taf. III, Fig. 23.
[3]) Siehe Taf. III, Fig. 24.

Eindruck, dass es sich um ein der Reife vollends entgegengehendes Organ handelt, nur dass die Gesamtgrösse noch nicht dem eines vollreifen Eierstockes entspricht. Den erstaunlichen Einfluss der Freiheit erkennt man schon an den mit blossem Auge deutlich wahrnehmbaren, zur Hälfte dunkelbraun pigmentierten Eiern von 1,39—1,24 mm Durchmesser. Sie sind die in ihrer Entwicklung fortgeschrittenen und reifer gewordenen Eier, die in dem Eierstock vom 10. Juli des frisch gefangenen Frosches noch mittlere Grösse hatten. Mit der Lupe sehen wir daher an der äusseren Oberfläche auch meist ausgewachsene, oder annähernd ausgewachsene, hellpigmentierte Eier. Reichlich sind auch wieder Eier von etwa dem halben Durchmesser der grössten, mit hellbrauner Pigmentierung, also von etwa 0,62—0,77 mm Durchmesser zu finden, während die nur angedeutet pigmentierten Eier an der äusseren Oberfläche in geringerer Anzahl vorliegen. Teilweise sind sie auch durch die Ausdehnung der grossen Eier nach innen zu verdrängt. Ausserdem sieht man dann Inseln kleiner weisser Eier, die Anfänge einer folgenden Reifeperiode, die aber schon bedeutend grösser geworden sind, als in dem Ovarium des entsprechenden gefangen gehaltenen Frosches. Von schwarzen Eiern ist in dem gezeichneten Gesichtsfeld keine Spur zu sehen: ein grosser Unterschied im Vergleich zu der grossen Anzahl der schwarzen Eier in dem Ovarium des gefangen gehaltenen Frosches. Bei genauer Untersuchung finden sich aber auch in diesem Ovarium mehrere schwarze Eier, die sehr klein sind, etwa die Grösse der weissen Eier haben, und so weit auseinander liegen, dass in mehreren Gesichtsfeldern keines zu liegen kommt. Einige von ihnen haben einen unregelmässigen, gezackten Rand, gehen also schon in das Narbenstadium über. Bei genauem Zusehen kann man solche Eier auch mit blossem Auge als weit zerstreut liegende, winzige Pünktchen wahrnehmen, besonders da, wo sie zufällig auf der pigmentfreien Seite eines reifen Eies sich abheben. Es ist demnach nicht daran zu zweifeln, dass auch bei in der Freiheit lebenden Fröschen der Gattung Rana esculenta Rückbildung nicht abgelegter Eier vorkommt. Ihrer Grösse nach stammen sie nicht von der vorliegenden Generation von Eiern, sondern sind Reste von Eiern, die aus irgend einem Grunde nicht zur Ablage gekommen sind. Wenn sie der neuen Reifungsperiode angehörten, müssten sie bedeutend grösser sein.

An der inneren Oberfläche finden sich dieselben Eibildungsstadien und in ähnlicher Verteilung und Anzahl, wie an der äusseren Oberfläche. Nur die ganz kleinen Eier der äusseren Oberfläche sind grösstenteils verdeckt. In dem untersuchten Gesichtsfeld findet sich gerade eins der schwarzen Eier, von denen oben die Rede war.[1]) Es liegt natürlich an der äusseren Oberfläche und scheint hier durch eine Lücke zwischen anderen Eiern durch. Es ist schon eines der grössten hier vorkommenden schwarzen Eier. Man übersieht ferner eine grössere Anzahl von nach innen zu gedrängten Eiern mit eben beginnender Pigmentierung.

Zum Schlusse möchte ich noch berichten, dass ein Frosch, der am 4. Juli getötet wurde und frisch gefangen war, und eine Grösse von 15,5 cm, gemessen von der Schnauze bis zur Schwanzspitze, besass, noch gar keine reifen Eier ausgebildet hatte. Das Ovarium des sonst sehr gut genährten Tieres besass einen riesigen Fettkörper, der bedeutend grösser ist, als das Organ selbst.[2]) Das Ovarium ist hellgelb bis hellgrau. Auf den noch sehr kleinen Läppchen sieht man von aussen nur einige durch ihre Grösse hervorragende Eier mit leicht gelber Pigmentierung von 0,46—0,86 mm Durchmesser. Sonst finden sich zahlreiche vollständig pigmentlose, weisse Eier verschiedenster Grösse bis zu 0,4 mm Durchmesser. Von schwarzen Eiern, also Resten reif gewordener Eier, die sich doch immerhin, wenn auch in geringer Zahl, in einem reif gewesenen Eierstock finden lassen, ist absolut nichts, weder auf der ganzen äusseren, noch auf der ganzen inneren Oberfläche zu sehen. Ein Stück der inneren Oberfläche gibt die beigefügte Tafelfig. 26 wieder. Vergleicht man sie mit der entsprechenden Figur des am 10. Juli getöteten, frisch gefangenen Frosches, der also nur vier Tage später getötet wurde, so stimmen die Grössenverhältnisse in beiden Ovarien annähernd überein. Man sieht auch an der Innenfläche mehr grosse Eier, als an der Aussenfläche, weil dort die grossen Eier zum Teil von den kleinen, weissen überlagert sind. Man vermisst aber bei diesen den der Zeit entsprechenden Grad der Pigmentierung vollständig, und ebenso die ganz schwarzen Eier, die doch in dem Gesichtsfeld des Präparates vom 8. Juli immer-

[1]) Siehe Taf. III, Fig. 25.

[2]) Siehe Taf. III, Fig. 26

hin zu mehreren zu finden sind, vollständig. Auf Grund dieser Tatsachen muss man den Schluss ziehen, dass der Frosch noch gar keine reifen Eier produziert hatte, weil sein Ovarium noch nicht die entsprechende Entwicklung erreichte. Weibchen von Rana esculenta mit 15,5 cm Kopf-Steisslänge werden somit erst im folgenden Jahre geschlechtsreif.

Das Ergebnis der Untersuchung lässt sich folgendermassen zusammenfassen:

Wie beim hungernden Tier werden auch bei Weibchen von Rana esculenta, die in der Gefangenschaft gefüttert wurden, die reifen, an der Ablage gehinderten Eier resorbiert. Die Resorption wird durch Zugrundegehen der Zona pellucida und Vergrösserung der Granulosazellen eingeleitet. Die Granulosazellen dringen nach dem Schwund der Zona pellucida gegen den Dotter vor, beladen sich mit Dotterkörnchen und Pigment. Darauf beginnt eine mesodermale Einwanderung von Zellen und Blutgefässen, die den Resorptionsprozess einleiten und durchführen, wie bei der Bildung des normalen Corpus luteum. Das Ei wird kleiner, tiefer und gleichmässiger schwarz pigmentiert, bis zuletzt jede Spur des Prozesses nach Verflüssigung und Aufnahme der Teile in die Blutgefässe verwischt wird, indem sich auch die Blutgefässe zurückbilden.

Während der Degeneration der für die betreffende Brunst gebildeten reifen Eier geht das Wachstum und die Neubildung von Eiern weiter, begünstigt freilich durch gute Ernährung, aber unbekümmert um die Gefangenschaft.

Literaturverzeichnis.

1a. Nussbaum, M.: Über den Einfluss der Jahreszeit, des Alters und der Ernährung auf die Form der Hoden und Hodenzellen der Batrachier. Mit 7 Tafeln. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 68.

1b. Nussbaum, Karsten, Weber: Lehrbuch der Biologie, S. 100.

2. Heidkamp, Hans: Über die Einwirkung des Hungers auf weibliche Tritonen. Arch. f. d. ges. Phys., Bd. 128. Bonn 1909.

3. Nussbaum, M.: Zur Mechanik der Eiablage bei Rana fusca und Rana esculenta. Pflügers Archiv, Bd. 124. Bonn 1908.

4. Pflüger, E.: Über Eierstöcke der Säugetiere und des Menschen. Leipzig, Engelmann, 1863. Mit 5 Tafeln.

5. Ruge, G.: Über Vorgänge am Eifollikel der Wirbeltiere. Morphol. Jahrb., herausgeg. von K. Gegenbaur, Bd. 15, 1889.
6. Schultze, O.: Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung des Amphibieneies. Erste Abhandlung. Zeitschr. f. wissensch. Zool., Bd. XLX, 2, 1887, S. 181, Fig. 8 und 9.
7. Bonnet, R.: Beiträge zur Embryologie der Wirbeltiere, gewonnen am Schafei. Arch. f. Entwicklungsgesch., 1884, S. 170—230, Taf. IX—XI.
8. v. Sehlen, D.: Beitrag zur Frage nach der Mikropyle des Säugetiereies. Arch. f. Anat. u. Entwicklungsgesch., Jahrg. 1882, S. 33—52, Taf. V.
9. Rauber, A.: Über den Ursprung der Milch und die Ernährung der Frucht im allgemeinen. Leipzig 1879. Mit 2 Tafeln. S. 1—48.
10a. Beddard, F. E.: The ovarian ovum of Lepidosiren (Protopterus). Zool. Anz., Nr. 225, S. 373—375.
10b. Derselbe: Note of the ovarian ovum of Protopterus. Proceedings of the Zoolog. Society of London. May 4, 1886, S. 272—292, Plate XXVIII und XXIX.
10c. Derselbe: Observations of the Developm. and Structure of the Ovarian ovum in the Dipnoi. Proceedings of the Zoolog. Society of London. Dez. 1887, p. 505—527, Plate LII—LIV.
11. v. Brunn, A.: Zur Kenntnis der physiologischen Rückbildung der Eierstockseier. Göttinger gelehrte Anzeigen, 1880, S. 155—156.
Derselbe: Die Rückbildung nicht ausgestossener Eierstockseier bei Vögeln. Beiträge zur Anatomie und Embryologie als Festschrift für Jakob Henle. Bonn 1882, S. 1—8, Taf. I.
12. Schulin, K.: Zur Morphologie des Ovariums. Arch. f. mikr. Anat., Bd. XIX, 1881, S. 442—512, Tafel XXII—XXIV.
13. Waldeyer: Eierstock und Ei. Leipzig 1870.
14. Bühler, C.: Rückbildung der Eifollikel bei Wirbeltieren. II. Amphibien. Leipzig, Wilh. Engelmann, 1902.
Derselbe: I. Fische.
15. Böshagen: Über verschiedene Formen der Rückbildungsprodukte der Eierstocksfollikel und ihre Beziehungen zu Gefässveränderungen des Ovariums. Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynaecol., Bd. LIII, Heft 2.
16. v. Kölliker, A.: Über Corpora lutea atretica. Verhandl. d. anat. Gesellsch., 12. Dez. 1898, S. 149.
17. Rabl, H.: Beitrag zur Histologie des Eierstocks des Menschen nebst Bemerkungen über die Bildung von Hyalin und Pigment. Anat. Hefte, 1898, Bd. XI, Heft 34/35, S. 109.
18. De Sinéty: Recherches sur l'ovaire du foetus et de l'enfant nouveau né. Archives de Physiologie, 1875, S. 501.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel I - III.

Tafel I.

Fig. 1. Stück von der Peripherie eines reifen normalen Eies von einem am 10. Mai getöteten, bis dahin in einem Bassin im Freien gehaltenen und nicht besonders gefütterten Frosch (Rana esculenta) Leitz, Occ. 2, Obj. 7.

p = Peritonealepithel; g = Granulosa; z = Zona pellucida; d = Dotter.

Fig. 2. I. Stadium der Rückbildung. a) Stück von der Peripherie eines Ovarialeies von einem Anfang Juni getöteten, bis dahin gefangen gehaltenen und gefütterten Frosch. Leitz, Obj. 7, Occ. 2.

p = Peritonealepithel; g = etwas vergrösserte Granulosazellen; g' = Granulosazellen, die sich anschicken, in den Dotter einzuwandern; m = Stelle der Zona pellucida, welche die ersten Auflösungserscheinungen zeigt; d = Dotter; s = Riss im Präparat.

Fig. 3. II. Stadium der Rückbildung. Stück von der Peripherie des animalen Poles von einem am 13. Juli getöteten, bis dahin gefangen gehaltenen und gefütterten Frosch. Leitz, Obj. 7, Occ. 2.

p = Peritonealepithel; g = Granulosazellen, bedeutend vergrössert; d = Dotter; z = Pigmentzone.

Fig. 4. III. Stadium der Rückbildung. Eiperipherie von einem am 13. Juli getöteten, bis dahin gefangen gehaltenen und gefütterten Frosch. Leitz, Obj. 7, Occ. 2.

p = Peritonealepithel; g = Granulosazellen, die äussersten Partien des Dotters einnehmend. In ihrem Protoplasma Dotterkörnchen (d), diese zum Teil in kleinere Gebilde (d') zerfallen.

Fig. 5. IV. Rückbildungsstadium. Stück von der Eiperipherie eines am 24. Juli getöteten, bis dahin gefangen gehaltenen und nicht gefütterten Frosches. Leitz, Obj. 7, Occ. 2.

p = Peritonealepithel; g = Granulosazellen mit Fortsätzen (f) von Pigmentkörnchen beladen, vordringend in das Innere des Dotters (d); b = Zellage, wahrscheinlich bindegewebiger Herkunft.

Fig. 6. V. Stadium der Rückbildung. Stück von der Eiperipherie eines am 13 Juli getöteten, bis dahin gefangen gehaltenen und gefütterten Frosches. Leitz, Obj. 7, Occ. 2.

p = Peritonealepithel; g = Granulosazellkerne; f = zugehöriges Protoplasma mit langen, sich in den Dotter erstreckenden Fortsätzen (f); d = intakte Dotterplättchen; d' = vom Protoplasma aufgenommene Dotterplättchen; pg = aufgenommenes Pigment; v = Vacuolen in dem Protoplasma der Granulosazellen.

Fig. 7. VI. Stadium der Rückbildung. Stück von der Eiperipherie eines am 16. Juli getöteten, bis dahin gefangen gehaltenen und gefütterten Frosches. Leitz, Obj. 7, Occ. 2.

p = Peritonealepithel; e = Endothelzellen; bl = rotes Blutkörperchen; g = Kern einer Granulosazelle; pg = Pigment; v = Vacuole.

Fig. 8. Stück aus der Mitte des vorigen Eies. Gleiche Vergrösserung. Zeigt die Einwanderung von Geweben mesodermalen Ursprungs.

e = Gefässendothel; bl = rote Blutkörperchen; g = Granulosazellkerne, die zugehörigen Zellkörper nicht abgrenzbar; d = vereinzeltes in einer Vacuole gelegenes Dotterplättchen; v = Vacuole; pg = Pigmentkörnchen.

Tafel II.

Fig. 9. Ovarium eines am 10. Mai getöteten Frosches aus einem Bassin im Freien, wo keine besondere Fütterung stattfand. Äussere Oberfläche.

r = reifes Ei mit halber, r' = reifes Ei mit ganzer nach aussen gekehrter Pigmentfläche; m = mittelgrosses Ei; Ke = kleines unreifes Ei; pg = Pigmentnarbe. Vergr. 2,5 mal.

Fig. 10. Ovarium des am 10. Mai getöteten Frosches von innen gesehen.

r = reifes Ei; m = mittelgrosses Ei; pg = Pigmentrest. Vergr. 2,5 mal.

Fig. 11. Ovarium eines Anfang Juni getöteten, bis dahin gefangen gehaltenen und gefütterten Frosches von aussen.

r = reifes Ei; r' = der Reife nahestehendes Ei; m = mittelgrosses Ei; w = weisses unreifes Ei; pg = Pigmentnarbe. Vergr. 2,5 mal.

Fig. 12. Ovarium eines am 16. Juli getöteten, bis dahin gefangen gehaltenen und gefütterten Frosches von aussen.

g = grosses Ei im Anfang der Degeneration; m = mittelgrosse Eier mit verschieden weit fortgeschrittener Degeneration; w = kleines weisses pigmentloses Ei; pg = schwarzes Pigmentei. Vergr. 2,5 mal.

Fig. 13. Ovarium eines am 24. Juli getöteten Hungerfrosches.

hbr = hellbraun pigmentiertes Ei mittlerer Grösse; pg = sehr schwarz pigmentiertes Ei; pgn = Pigmentnarbe; w = weisses pigmentloses junges Ei. Vergr. 2,5 mal.

Fig. 14. Ovarium eines am 24. Juli getöteten, bis dahin gefangen gehaltenen und gefütterten Frosches.

hb = hellbraun pigmentiertes heranreifendes Ei; pg = schwarzes Pigmentei; pgn = Pigmentnarbe; w = weisses pigmentloses Ei. Vergr. 2,5 mal.

Fig. 15. Ovarium eines am 16. Mai gefangenen, gefütterten und am 24. Mai getöteten Frosches von aussen.

r = reifes Ei; m = mittelgrosses eben pigmentiertes Ei; w = weisses unreifes Ei; w' = weisses Ei auf der Oberfläche eines ausgereiften Eies. Vergr. 7,5 mal.

Fig. 16. Ovarium des am 24. Mai getöteten Frosches von innen.
r = reifes Ei; m = mittelgrosses leicht pigmentiertes Ei; m' = dunklerer pigmentierter Teil der Oberfläche eines mittelgrossen Eies; w = weisses Ei, in den Lücken zwischen den grossen Eiern liegend. Vergr. 7,5 mal.

Fig. 17. Ovarium einer gefangen gehaltenen Rana esculenta hungarica, am 12. Mai getötet, von innen.
r = reifes Ei; r' = der Reife nahestehendes Ei; w = weisses pigmentloses junges Ei; w' = weisses Ei grösster Form. Vergr. 7,5 mal.

Fig. 18. Ovarium eines am 7. Mai gefangenen, gefütterten und am 1. Juli getöteten Frosches von aussen.
r = reifes Ei; m = in der Reife fortgeschrittenes Ei mittlerer Grösse; w = inselförmig zusammenliegende weisse Eier; pg = Pigmentmassen. Vergr. 7,5 mal.

Fig. 19. Ovarium des am 1. Juli getöteten Frosches von innen.
r = reifes Ei; m = mittelgrosses reifer gewordenes Ei; w = weisses Ei; pg = Pigmentei. Vergr. 7,5 mal.

Fig. 20. Ovarium eines am 8. Juli frisch gefangenen und am 16. Juli getöteten Frosches von aussen.
m = herangewachsenes mittelgrosses Ei; ü = eben pigmentierte Übergangsform zu den mittelgrossen Eiern; w = weisses pigmentloses Ei; pg = nicht abgelegtes der Degeneration verfallenes schwarzes Ei. Vergr. 12,5 mal.

Fig. 21. Ovarium des am 16. Juli getöteten Frosches von innen.
m = mittelgrosses heranreifendes Ei; pg = schwarzes Pigmentei; ü = Übergangsform von weissen zu mittelgrossen Eiern; w = weisses pigmentloses Ei. Vergr. 7,5 mal.

Tafel III.

Fig. 22. Ovarium eines am 27. Mai gefangenen, gefütterten und am 31. Juli getöteten Frosches von aussen.
m = heranwachsende mittelgrosse hellbraun pigmentierte Eier; w = weisse pigmentlose Eier; deg = Eier in anfänglichem Degenerationszustand; pg = ganz schwarze Pigmenteier; pg' = alte Pigmentnarben. Vergr. 7,5 mal.

Fig. 23. Ovarium des am 31. Juli getöteten Frosches von innen.
ü = Übergangsform eines weissen zu mittelgrossen Eiern mit ihrer pigmentlosen Seite; w = weisse Eier; pg = Pigmenteier. Vergr. 7,5 mal.

Fig. 24. Ovarium eines am 31. Juli getöteten, frisch gefangenen Frosches von aussen.
r = der Reife sehr nahestehendes Ei; m = Ei mittlerer Grösse; w = weisses Ei; w' = kleinere weisse Eier auf der Oberfläche der grossen reifenden Eier. Vergr. 7,5 mal.

Fig. 25. Ovarium des am 31. Juli getöteten, frisch gefangenen Frosches von innen.

r = bald reifes Ei; ü = Übergangsform zu den mittelgrossen Eiern mit beginnender Pigmentierung; pg = vereinzelt vorkommendes schwarzes Ei; w = in den Lücken erkennbare weisse Eier. Vergr. 7,5 mal.

Fig. 26. Ovarium eines am 4. Juli getöteten, frisch gefangenen Frosches von 18,5 cm Grösse von innen.

Zeigt unreife weisse pigmentlose Eier (w), mittelgrosse der Zeit nicht entsprechend stark pigmentierte Eier (m) und Übergangsformen zu diesen (ü). Vergr. 7,5 mal.

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Halle.

Die Urgeschlechtszellen von Amblystoma.

Ein Beitrag zur Kenntnis der Keimbahn der Urodelen Amphibien.

Von

Reinhold Schapitz, cand. zool.

Hierzu Tafel IV, Va, Vb und 3 Textfiguren.

Einleitung.

Seit den ersten Entdeckungen, durch die Weismanns Lehre von der Kontinuität des Keimplasmas veranlasst wurde, durch die sie weiter gestützt und — für viele Wirbellose wenigstens — in gewissem Sinne bewiesen wurde, sind in rascher Folge zahlreiche Arbeiten auch über die Keimbahn der Wirbeltiere erschienen. Ähnliche unzweifelhafte und lückenlose Rückverfolgungen wie bei Ascaris (Boveri [1892]) und Cyclopiden (Haecker [1897]) liegen indessen noch nicht vor.

Die ihrer Entwicklung nach ältesten Stadien der Keimbahn, die schon fertige Eier und Samenfäden enthalten, sind naturgemäss am besten untersucht. So sind wir über die Differenzierung der Oogonien und Spermatogonien zu reifen Geschlechtsprodukten hinreichend orientiert. Die jüngsten Stadien der Keimbahn jedoch, vom frühesten Erscheinen der Urgeschlechtszellen bis zur Anlage der indifferenten Genitalanlage, sind noch wenig erforscht. Ganz abgesehen davon, dass ein Zusammenhang der „Urgeschlechtszellen" mit den Oogonien und Spermatogonien und so mit den definitiven Geschlechtsprodukten noch nicht für alle Fälle erwiesen ist und von einigen Forschern, so Winiwarter und Sainmont (1909[1]), beharrlich bestritten wird, herrschen die verschiedensten Anschauungen über Ort und Zeit der Entstehung der ersten Urgeschlechtszellen. Es gilt in dieser Hinsicht durchaus noch dasselbe, was Semon (1887) ausführt: „Gerade die wichtigsten Fragen, diejenigen, die sich auf die Entstehung der Keimprodukte

[1]) Die Jahreszahlen hinter den Autornamen geben das Erscheinungsjahr der angezogenen Arbeiten an. Diese sind danach im Literaturverzeichnis aufzufinden.

und ihre Beteiligung beim Aufbau der Geschlechtsorgane beziehen, sind teils noch ganz dunkel, teils widersprechen sich die Beobachter bei ihrer Beantwortung in den Hauptpunkten."

So sind die Urgeschlechtszellen des Amphioxus nur bis zu ihrer Entstehung aus Peritonealzellen („Grenzzellen"[1]) rückverfolgt. (Hatscheck [1884], Boveri [1892], Zarnick [1904].) Bei Myxinoiden ist nur das Zustandekommen der indifferenten Keimanlage bekannt. (Cunningham [1887], Maas [1897], Schreiber [1904].) Für Teleostier liegen die widersprechendsten Angaben über die erste Keimbahnstrecke vor. Einmal ist der Zeitpunkt, an dem die ersten deutlichen Urgeschlechtszellen auftreten, strittig und nach einzelnen Familien anscheinend verschieden. Andererseits gehen die Anschauungen über ihre Abkunft auseinander. So führt Nussbaum (1880) die Urgeschlechtszellen der Teleostier auf Zellen zurück, denen ab ovo eine besondere Stellung zukommen soll, ohne allerdings Beweise dafür zu liefern. Er findet Urgeschlechtszellen („Geschlechtszellen") im Peritonealepithel und sagt von ihnen (S. 24): „Es ist nicht schwer, sich davon zu überzeugen, dass kein Übergang zwischen beiden Zellenarten (nämlich Peritonealzellen und Urgeschlechtszellen) stattfindet". Hoffmann (1886) ist jedoch durchaus anderer Ansicht. Er findet sie am gleichen Ort, „kann aber in den Ureiern der Knochenfische nichts anderes als umgebildete und höher differenzierte Peritonealzellen erblicken, welche sich in den jüngsten Entwicklungsstadien schon ganz bestimmt durch indirekte Kernteilung vermehren". Eine ähnliche Entstehung gibt J. Mac Leod (1881) für die Urgeschlechtszellen von Hippocampus, Gobius, Sygnathus an. Er sagt (S. 515): „Primitivement, chez des embryons plus jeunes, il n'y a aucune trace de ces cellules. Elles apparaissent relativement fort tard. Pour ce motif nous croyons . . . . que ces éléments sont le résultat d'une différenciation des cellules endothéliales, et nous ne pouvons admettre avec Nussbaum . . . . qu'il s'agit ici de cellules n'ayant aucun lien de parenté avec l'endothélium péritonéal." Eigenmanns Angaben (1892) scheinen noch am meisten für Nussbaums Auffassung zu sprechen. Er verfolgt bei Mikrometrus

[1]) Diese „Grenzzelle", welche an der Stelle, wo Cutisblatt und skelettogenes Skleralblatt sich vereinigen, liegt, ist weiter auf schon viel früheren Larvenstadien nachgewiesen.

die Urgeschlechtszellen zunächst bis zu der Zeit, wo sich der Blastoporus schliesst. An besonders günstigen Objekten ist er sogar imstande, sie bis auf Furchungszellen fünfter Ordnung zurückzuführen. Jedoch kann er nicht alle Urgeschlechtszellen auf seine zwei Stammzellen, eine rechts und eine links im Entoderm des Embryos zwingend zurückführen. Für vorhandene Urgeschlechtszellen ist ein Zusammenhang nicht nachzuweisen, „unless they early migrate from their original position". Mir scheint sogar, dass Eigenmanns Befunde bei näherem Hinsehen auch nichts anderes zeigen, als eine Umwandlung von anderen Zellen in Urgeschlechtszellen. Er gibt zwar an, dass sie sich auf gewissen Stadien durch bestimmte Färbbarkeit scharf unterscheiden. Aber gerade in den entscheidenden Stadien versagt nach Eigenmanns Angabe dieses Unterscheidungsmerkmal, so dass schliesslich nur noch die Grösse der Zellen einen Unterschied bilden soll. Seine Bilder sind aber hierin nicht überzeugend. Grösse und Kernstruktur der Urgeschlechtszellen sind nicht auf allen Stadien gleich, so dass besonders die ersten Urgeschlechtszellen den Zellen des umgebenden Gewebes wahrscheinlich ähnlicher sind als den Urgeschlechtszellen der älteren Stadien. — wahrscheinlich, denn seine schematischen Bilder lassen über die eigentliche Beschaffenheit der surrounding cells ebenso wie über die der Urgeschlechtszellen („prominently standing out from the other cells") kein rechtes Urteil gewinnen.

Ebensowenig übereinstimmende Angaben über die Herkunft und das erste Auftreten der Urgeschlechtszellen liegen für die Selachier vor. Hier werden sie entweder auch direkt auf Furchungszellen zurückgeführt (Balfour [1878], Beard [1900/1904], Woods [1902]) oder als umgewandelte Peritonealzellen angesprochen, besonders auch die sekundären und die zwischen zwei Brunstperioden neu auftretenden Geschlechtszellen (Ludwig [1874], Semper [1875]).

Von Ganoiden, Petromyzonten und Dipnoern ist Herkunft und erstes Auftreten der Urgeschlechtszellen nicht studiert.

Für Reptilien ist nach den Untersuchungen Hoffmanns (1889) an Lacerta und besonders in den letzten Jahren Allens (1906) an Chrysemys eine Einwanderung in die Genitalregion wahrscheinlich gemacht. Und zwar lässt sie Hoffmann, wie bei Knochenfischen, Knorpelfischen und Amphibien, so auch hier sich

aus Peritonealzellen „differenzieren", während sie Allen schon im Entoderm „findet". In gleicher Weise behauptet Jarvis (1910) bei Phrynosoma ein frühzeitiges Auftreten der Urgeschlechtszellen im Entoderm, von wo sie teils in die Genitalregion einwandern und Urgeschlechtszellen werden, teils von ihrer Route abkommen („leave this path") und degenerieren sollen. Ebenfalls im Entoderm findet sie Gasparro (1908) und Trinci (1908) bei Gongylus, Lacerta, Seps, Anguis.

Auch bei Vögeln ist eine Einwanderung der Urgeschlechtszellen in die Genitalregion, also ihre Entstehung an anderem Ort erwiesen. Ihre Abkunft ist jedoch auch hier strittig. Nussbaum (1903) fand sie schon am zweiten Bebrütungstage und nach ihm sollen sie auch hier auf Furchungszellen direkt zurückzuführen, jedenfalls Gebilde sui generis sein. Andere Autoren haben jedoch auch für Vögel morphologische Übergänge zwischen generativen und somatischen Zellen beobachtet und leiten sie daher aus Mesodermzellen ab, besonders konstatieren sie die Neubildung von Urgeschlechtszellen in älteren Embryonen aus Peritonealzellen.

Bei Säugetieren endlich ist die Entstehung der Urgeschlechtszellen völlig unaufgeklärt. Die ersten Genitalzellen treten in der fertigen Leiste auf, und es ist nicht bekannt, ob sie hierhin einwandern oder an Ort und Stelle entstehen, auch ist es strittig, ob aus den zuerst beobachteten Urgeschlechtszellen tatsächlich Oogonien und Spermatogonien hervorgehen (Winiwarter, Sainmont [1908], Michalkowicz [1885]). Nur Rubaschkin (1909) behauptet das frühzeitige Auftreten ausserhalb des Keimepithels und die Beteiligung der Urgeschlechtszellen an der Bildung der definitiven Geschlechtsprodukte.

Hinsichtlich der Amphibien liegen die besten Resultate vor. Besonders die letzte zusammenfassende Arbeit über den Ursprung der Geschlechtszellen bei den Amphibien aus der Feder Dustins (1908) bringt einen kritischen Überblick über die Arbeiten an Amphibien und eigene Untersuchungen über Triton alpestris, Rana fusca, Bufo vulgaris.

In Übereinstimmung mit Angaben Göttes (1869) über Bombinator igneus, Hoffmanns (1886) über Triton cristatus, Rana temporaria und esculenta, Bufo cinereus und Alytes obstetricans und Halls (1904) über Amblystoma findet er eine

paarige, symmetrische, scheinbar metamere aus dem Mesoderm hervorgehende Urgeschlechtszellenanlage, im Gegensatz zu Nussbaum (1880) und Bouin (1900) und neuerdings Kuschakewitsch und Allen (1907), die bei Amphibien eine unpaare in der Radix Mesenterii im hinteren Drittel des Tieres liegende Anlage beschreiben.

Weit entfernt davon, hier eine umfangreiche Literaturübersicht und ein kritisches Referat über den heutigen Stand der Keimbahnforschung zu geben, möchte ich nur folgenden mir wichtig erscheinenden Widerspruch aus den bisherigen Ausführungen über das erste Auftreten der Urgeschlechtszellen herausgreifen.

Ein Teil der Beobachter ist der Ansicht, dass die Urgeschlechtszellen bestimmte embryonale Charaktere, so den Dotterreichtum, die eigentümliche Chromatinverteilung und die durch sie bedingte Färbbarkeit der Kerne u. a., länger behalten als die somatischen Zellen, die diese Charaktere frühzeitig verlieren. Nach diesen Autoren wären also in frühen Stadien somatische und generative Zellen noch gleich, trotzdem glauben sie die generativen dennoch weiter unterscheiden und rückverfolgen zu können (Nussbaum, Eigenmann, Balfour u. a.).

Die anderen Untersucher geben eine „Differenzierung" gewisser Zellen (die bis dahin nicht unterscheidbar sind) zu Urgeschlechtszellen an. Auch nach ihnen haben die wohl charakterisierten Urgeschlechtszellen schliesslich einen von den somatischen Zellen durchaus verschiedenen Habitus; jedoch ist dieser auf bestimmten jüngeren Stadien nicht mehr nachzuweisen, nicht aber deswegen, weil auf solchen die somatischen Zellen anderen Charakter zeigten und den Urgeschlechtszellen ähnlich wären — wenn das auch immerhin bis zu einem gewissen Grade der Fall sein mag —, sondern weil vielmehr die Urgeschlechtszellen ihren differenten Habitus noch nicht ausgebildet haben, also als „Urgeschlechtszellen" überhaupt noch nicht vorhanden sind (Hoffmann u. a.). Nach den einen sind also die Urgeschlechtszellen ab ovo Gebilde sui generis, während sie nach anderen sich erst auf verhältnismässig älteren Stadien dazu „differenzieren".

Das Kriterium für das Vorhandensein von Urgeschlechtszellen ist nun, solange kein für somatische Zellen und generative Zellen differentes Chemicum zur Verfügung steht, nur in den

morphologischen Unterschieden zwischen beiden Zellenarten gegeben. Es ist mir nicht klar, wie im Sinne der ersten Anschauung die den somatischen Zellen auf einem bestimmten Stadium morphologisch gleichwertigen generativen Zellen unterschieden oder weiter zurückverfolgt werden können. Wenn auf einem bestimmten jüngeren Stadium die Urgeschlechtszellen ihre unterscheidenden Charaktere „verlieren" und alle Zellen morphologisch gleichwertig erscheinen, so darf hier kein physiologischer Unterschied mehr behauptet, und Urgeschlechtszellen dürfen auf noch jüngeren Stadien aus logischen Gründen nicht mehr unterschieden werden.

Während nun die früheren Beobachter bei ihren Darstellungen von einem beliebigen jüngsten Stadium ausgingen, in dem nach ihnen die „ersten" Urgeschlechtszellen auftreten, habe ich es für zweckmässig gehalten, auch in der Darstellung die Wege zu gehen, die aus begreiflichen Gründen die Untersuchung einschlägt. Und zwar habe ich von einem Stadium, wo Urgeschlechtszellen einwandfrei festgestellt werden können, die als solche unzweifelhaft charakterisierten Zellen bis zu den Stadien zurückverfolgt, wo sie mit allen ihren Charakteren zuerst auftreten (Kap. I). Von da ist nach oben gehend weiter untersucht, ob Urgeschlechtszellen zu Oogonien und Spermatogonien werden, ob sie alle dazu werden, und ob noch andere Zellen sich an der Bildung dieser Elemente beteiligen (Kap. III u. IV). In Kapitel I sind demgemäss die Urgeschlechtszellen ohne Rücksicht auf die Gesamtausbildung und Lagebeziehung der Genitalanlage im Embryo beschrieben, dagegen ist in Kapitel III und IV eine zusammenfassende Darstellung der Keimbahn bis zur Ausbildung der indifferenten Keimleiste mit Rücksicht auf die Gesamtentwicklung gegeben. Als Kapitel II ist eine kurze Betrachtung über Urgeschlechtszellen ähnliche Zellen anderer Embryonalanlagen eingeschoben.

Die Untersuchungen, die sich von November 1909 bis Juli 1911 erstrecken, sind im Zoologischen Institut zu Halle begonnen und zu Ende geführt. Als Objekt lag Amblystoma mexicanum in zahlreichen Laichen vor. Dieses jetzt in Deutschland viel von Aquarienliebhabern gezogene Tier ist ein ganz vorzügliches Objekt für Keimbahnstudien, vor allem wegen der grossen Zellelemente und der scharf von den umgebenden somatischen

Zellen unterschiedenen Urgeschlechtszellen. Es sind beide Formen, die schwarze wie die albinotische, gleich gut für diese Zwecke geeignet, wenigstens zeigten sich bei meinen Untersuchungen Unterschiede nicht. Nur sei bemerkt, dass der Laich von rein weissen Eltern weniger widerstandsfähig zu sein scheint.

Bevor ich mich in medias res begebe, wünsche ich Herrn Prof. Dr. Haecker meinen Dank auszusprechen, der mich zu dieser Arbeit angeregt und sie in allen ihren Teilen mit stets regem Interesse überwacht und gefördert hat, ferner Herrn Privatdozent Dr. Brüel, der meine zoologischen Studien von ihrem Beginn an, und so auch diese Arbeit, geleitet und in kritische Bahnen gelenkt hat. Für seine Winke in technischen Fragen danke ich Herrn Privatdozent Dr. Japha. Um die Aufzucht des Laichs hat sich Herr Präparator Neumeister und Herr cand. rer. nat. Pernitzsch verdient gemacht. Letzterer hat auch zu Zeiten, wo ich nicht im Institut anwesend sein konnte, die Konservierung des Materials besorgt.

Material und Methoden.

Zu den Untersuchungen wurden Eier und Larven von Amblystoma mexicanum (Cope) aus den mir von Herrn Prof. Haecker in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellten Zuchten verwendet. Fast alle Beobachtungen wurden an konserviertem Material und auf Schnittpräparaten gemacht. Die Embryonen lassen sich mühelos aus den gallertigen Eihüllen herausschneiden und fixieren. Zum Fixieren der Eier und Larven habe ich stets das Zenkersche Gemisch benutzt. Die Flemmingsche Flüssigkeit störte bei meinen Untersuchungen durch die Schwärzung mit Osmium, und die Schnitte nahmen dabei die Färbemittel, die aus bestimmten Gründen benutzt werden mussten, nur schlecht auf. Fixiert wurde 24 Stunden; danach folgte Aq. dest., Alk. 60 %, 75 % mit Jod in Jodkalium nach Mayer, Alk. 90 %, 96 % und Alk. abs. je 24 Stunden. Eingebettet wurde mit Chloroform und Paraffin, da Xylol die dotterhaltigen Embryonen für das Schneiden zu brüchig machte. Von Färbemitteln gab die besten Bilder Böhmers Hämatoxylin, und zwar liegen die Vorzüge dieser zu Unrecht vernachlässigten Farbe in der bequemen Differenzierung und vor allem darin, dass sie für die Kerne der Urgeschlechtszellen und die der somatischen Zellen bis in die jüngsten Stadien sehr gut unterscheidbare Färbungen ergibt.

Kapitel I.

Ich begann meine Untersuchungen an frischgeschlüpften Larven und Embryonen, die kurz vor dem Ausschlüpfen standen. Wenn schon das absolute Alter, in dem die Larven die Eihülle verlassen, ziemlichen Schwankungen unterworfen ist — Tiere, die im Heizaquarium gehalten wurden, in dem eine Durchschnittstemperatur von 25° herrschte, schlüpften schon am 12. Tage nach der Eiablage[1]) aus, während andere im Dezember 1909 im ungeheizten Zimmer bei durchschnittlich 10° noch nach 25 Tagen keine Eigenbewegungen zeigten und erst mit 40 Tagen die Eihülle verliessen — so ist doch das relative Alter beim Ausschlüpfen ziemlich gleich. Das zeigt die Länge des Körpers, die Ausbildung der Kiemen, die Grösse des Darmlumens und die Zahl der angelegten Urwirbel. Im folgenden sind für alle Altersangaben eine lückenlose Serie des Laichs vom 6. und 7. März 1910, ♂ weiss, ♀ schwarz, 5—15 Tage alt (p. c.) und eine Serie des Laichs vom 24. Februar 1910, ♂ weiss, ♀ weiss, 16—26 Tage alt (p. c.) zugrundegelegt und das Alter der Tiere anderer Laiche auf diese beiden Laiche bezogen.

Stadium I: 20 Tage p. c.

Die frischgeschlüpften Larven messen etwa 10 mm, wovon 2 mm auf den Kopf, 4 mm auf den Rumpf und 4 mm auf den Schwanz entfallen. Sie haben jederseits drei einfache Kiemen: Extremitäten sind noch nicht angelegt. Das relative Alter kennzeichnen etwa 30 Somitenpaare. Die Cloake liegt auf der Grenze vom 19. und 20. Somitenpaar, die beiden Wolffschen Gänge münden etwa beim 18. Somit in die Cloake. In der Nähe der Wolffschen Gänge, von ihrer Einmündung bis in die Nähe der Vorniere reichend, also etwa vom 16. bis 9. Somit, liegen die Urgeschlechtszellen. Querschnitte durch diese Genitalregion zeigen folgendes Bild hinsichtlich der hier interessierenden Verhältnisse.

Rechts und links von der Aorta verläuft jederseits ein Wolffscher Gang, dem ein kleineres Blutgefäss anliegt (Vena renalis revehens). Seitlich werden diese Zellkomplexe von den Somiten eingeschlossen. Die Somite bestehen aus deutlichen

[1]) Im weiteren Verlauf der Arbeit beziehen sich auch alle anderen Altersangaben auf die Eiablage und die mit ihr gleichzeitige Befruchtung und sind durch p. c. (post copulam) gekennzeichnet.

Muskelfasern. Da, wo sie in den Raum zwischen Wolffschem Gang und der Vena cardinalis eingedrungen sind, zeigen sich schon die Anlagen der Urnierenkanälchen. Die Splanchnopleura liegt dem Darm schon dicht an, während die Somatopleura nahe an der ektodermalen Körperwand liegt, so dass die sekundäre Leibeshöhle schon ein recht grosses Lumen hat. Dorsal stossen die Epithelien der beiden Seitenplatten bereits zusammen und bilden das Aufhängeband des Darmes. In der Nähe dieses Aufhängebandes, der Radix Mesenterii, finden sich nun die Urgeschlechtszellen, und zwar liegen sie dorsal von der Somatopleura mittwärts und unterhalb der Wolffschen Gänge.

Die Urgeschlechtszellen (Fig. 1) zeichnen sich durch ihre Grösse vor allen anderen Zellen aus. Ihre Kerne sind blasig aufgetrieben, hantelförmig, lappig oder wurstförmig. Das Kernplasma ist hellgefärbt und von nur wenigen gleichmässig verteilten ganz feinen chromatischen Körnchen und Fädchen erfüllt, dagegen sind stets grosse regelmässige runde Nucleolen vorhanden, die sich mit Plasmafarbstoff stark färben, und zwar meist ebensoviele wie Kernlappen. Man könnte an eine Gonomerie der Kerne denken (Haecker [1902]), jedoch habe ich, wenn auch zweilappige Kerne mit zwei Nucleolen die Regel bilden, auch einfache und dreilappige mit entsprechend vielen Nucleolen gefunden. Das Zellplasma ist von zahlreichen Dotterplättchen erfüllt und enthält stets viele braun bis schwarz gefärbte Pigmentkörnchen. Das Zusammenvorkommen dieser Charaktere unterscheidet die Urgeschlechtszellen auf diesem Stadium von den Zellen aller anderen Gewebe. Alle anderen Zellen haben einen von dem der Urgeschlechtszellen mindestens in einigen von diesen Punkten durchaus verschiedenen Habitus. Bei der Wichtigkeit für unseren Gegenstand sei nochmals wiederholt: sie sind vor allem in der Regel kleiner, sodann besitzen sie keine oder doch nur wenig Pigmentkörnchen, ausgenommen die Pigmentzellen, ferner haben sie keine Dotterplättchen, hier ausgenommen die Zellen der Wolffschen Gänge, die des Darmes und einige Zellen des Ektoderms, endlich sind alle Kerne in diesem Stadium durch grossen Chromatinreichtum ausgezeichnet, wenn auch hier wiederum die Kerne der Wolffschen Gänge und einiger Zellen des Ektoderms (siehe Kapitel II)

eine Ausnahme bilden und hierin gewisse Ähnlichkeit mit den Kernen der Urgeschlechtszellen haben. An der Hand dieser charakteristischen morphologischen Unterschiede muss der Zusammenhang der Urgeschlechtszellen mit den Oogonien und Spermatogonien aufzufinden sein und andererseits versucht werden, die Herkunft der Urgeschlechtszellen selber festzustellen.

Stadium H: 19 Tage p. c.

Das nächst jüngere Stadium zeigt gegen das beschriebene folgende Unterschiede. Zwischen Chorda und Aorta liegt ein im Querschnitt einzelliger Strang, die Subchorda. Die Radix Mesenterii erscheint auf ein Minimum verkürzt (Fig. 2). Die Leibeshöhle hat ein ausserordentlich kleines Lumen, sodass Splanchnopleura und Somatopleura einander beinahe berühren. Die Urgeschlechtszellen liegen näher an den Wolffschen Gängen, die ihrerseits weiter von der mittleren Lage dorsal vom Darm nach den Seiten gerückt sind. Die Anlage der Urnierenkanälchen ist als eine Zellschicht mit dunkler gefärbten Kernen am unteren Rande der Somite zu erkennen (Hall [1904]). Das Darmlumen ist sehr eng und noch nicht von einem besonderen Epithel ausgekleidet. Der ganze Darm besteht aus einer dichten Dottermasse, die Zellgrenzen sind verwischt. Der Charakter der Urgeschlechtszellen ist der gleiche wie im vorigen Stadium. Unter den Zellen der anderen Gewebe fallen einige durch grossen Dotterreichtum auf, doch sind die Urgeschlechtszellen scharf von ihnen unterschieden. Während nun aber bei den frischgeschlüpften Larven die Urgeschlechtszellen einen dünnen, im Querschnitt ein- bis zweizelligen kontinuierlichen Strang bildeten, haben wir in diesem Stadium eine perlschnurartige Anordnung der Urgeschlechtszellen im Verlauf der Anlage, einmal eine, dann wieder fünf bis sechs im Querschnitt (Fig. 3 und 25 und Textfig. 2); gelegentlich ist die Anlage auf 10—20 μ unterbrochen.

Stadium G: 18 Tage p. c.

Dieses An- und Abschwellen der Urgeschlechtsanlage tritt noch stärker in den nächst vorhergehenden Stadien hervor. Hier ist das Darmlumen verschwunden, das Entoderm besteht aus einer im Querschnitt kreisrunden Dottermasse mit wenig Kernen. Somatopleura und Splanchnopleura liegen dicht zusammen und

bilden eine einheitliche Seitenplatte, die aber immer noch deutlich zweischichtig ist. Jedoch berühren die beiden Seitenplatten einander über dem Darm nicht mehr, sondern erscheinen verkürzt. In der gleichen Richtung wie die dorsalen Enden der Seitenplatten erscheinen die Wolffschen Gänge und die Urgeschlechtszellen von der Mitte weg nach abwärts verlagert.

Während nun in den bisher beschriebenen Stadien die Urgeschlechtszellen jederseits auf einen Raum beschränkt waren, den der untere Rand des Somits, ein Stück der Darmperipherie oder das dorsale Ende der Seitenplatte, der Wolffsche Gang und die Aorta bezw. Vena cardinalis begrenzten, so finden wir in diesem Stadium zum erstenmal ausserhalb dieses Raumes Urgeschlechtszellen mit allen vorbeschriebenen Charakteren, im Verlauf der Anlage nur einige, und zwar den unteren Rändern der Somite angefügt. In einigen Fällen sind diese Zellen mit der längs den Wolffschen Gängen verlaufenden Genitalanlage im Zusammenhang, in anderen Fällen sind sie dagegen durch quer verlaufende Blutgefässanlagen völlig von der eigentlichen Anlage getrennt oder liegen an Stellen, wo die Genitalanlage unterbrochen ist. Es handelt sich bei diesen ausserhalb der Anlage liegenden Urgeschlechtszellen — ich nenne sie „extraregionale“ — wahrscheinlich um von dem normalen Weg abgeirrte Geschlechtszellen; entweder sind sie schon auf jüngeren Stadien von ihrer Route abgekommen (haben sich vielleicht wieder sekundär der Anlage genähert), oder sie sind aus der soweit fertigen Anlage durch andere Gewebekomplexe herausgedrückt bezw. abgeschnürt (Fig. 4). Es erhebt sich die Frage nach ihrem Verbleib. An drei Möglichkeiten wird man denken: Degeneration dieser Elemente, Rückwanderung in die Genitalanlage oder endlich Annahme der Charaktere derjenigen Gewebe, in die sie gerade geraten sind. Für die Richtigkeit der letzten Annahme scheinen mir einige Bilder zu sprechen, wo an einen Übergang vom Charakter der Urgeschlechtszellen zu dem der Somitzellen gedacht werden könnte (Fig. 5). Wenn man einerseits nicht verkennen darf, dass hier die Möglichkeit besteht, dass sich Urgeschlechtszellen neu bilden und der Anlage zuwandern, so halte ich das andererseits doch deshalb für ausgeschlossen, weil sie meist von der Anlage durch Gewebsstränge getrennt sind, die sie, da diese sich vergrössern, schon 24 Stunden später nicht mehr überwinden

können. Ich werde jedoch weiter unten (Kapitel III) noch auf die extraregionalen Urgeschlechtszellen einzugehen haben und wende mich deshalb zum nächst jüngeren Stadium.

Stadium F: 17 Tage, p. c.

In diesem Alter sind extraregionale Urgeschlechtszellen zahlreicher als in den bisher besprochenen späteren Stadien. Die Gesamtorganisationshöhe ist nur wenig von der im letztbeschriebenen Stadium verschieden. Verfolgt man jedoch die Genitalregion auf Querschnitten von vorn nach hinten, so zeigt sich in diesem Stadium etwas Neues. Die Genitalanlage liegt nicht in allen ihren Teilen in gleicher Höhe, sondern je mehr nach hinten wir gelangen, desto mehr erscheint sie ventralwärts verlagert, bis sie schliesslich — unter dem 16. Somit auf der rechten Seite — fast unter den Wolffschen Gang zu liegen kommt, wo sie im engsten Zusammenhang mit ihm und der Seitenplatte auftritt (Fig. 6). Die Lage weist uns auf die weitere Abkunft der Urgeschlechtszellen. Im allgemeinen ist ja die Entwicklung im vorderen Ende eines Embryos der im hinteren Ende etwas voraus. Man hat also die Berechtigung, aus Erscheinungen im hinteren Ende eines Embryos Schlüsse für die Herkunft und Ursache der gleichen Verhältnisse in seinem vorderen Teile zu ziehen. Es müssen demnach, wenn anders die Urgeschlechtszellen in allen Teilen der Anlage eine gleichartige Entstehung haben, in einem noch früheren Stadium auch im vorderen Teile der Genitalregion die Urgeschlechtszellen im gleichen Zusammenhang mit dem Wolffschen Gange und der Seitenplatte auftreten. Und das ist in der Tat der Fall (Fig. 7, 8, 10, 11).

Stadium E: 14 Tage p. c.

Ich bilde zunächst einen Querschnitt durch den hinteren Teil der Genitalregion eines 14 Tage alten Embryos ab (Fig. 7). Er zeigt, dass der Zusammenhang mit dem Wolffschen Gang und der Seitenplatte enger ist, als in allen vorbeschriebenen Stadien. Auch hier schon ragt das terminale Ende der Seitenplatte unter den Urgeschlechtszellen als schmales Band — im Querschnitt eine Zelle — dorsal über den Darm hervor.

Stadium D: 12 Tage p. c.

Bei 12tägigen Embryonen ist dies noch nicht der Fall, so dass Wolffscher Gang und Genitalanlage auch im vorderen Teil

über dem terminalen Ende der Seitenplatte verlaufen (Fig. 8). Die Seitenplatte selbst ist auf diesem Stadium undeutlich zweischichtig, jedenfalls aber nicht in Somatopleura und Splanchnopleura geschieden. Extraregionale Urgeschlechtszellen sind in diesem Stadium so gut wie nicht vorhanden. Aber der Habitus aller anderen Zellen — und das ist wichtig — ist dem der Urgeschlechtszellen allmählich immer ähnlicher geworden, so besonders derjenige der Zellen des Ektoderms, der Chorda dorsalis (Fig. 9), des Entoderms, der Wolffschen Gänge und der Seitenplatten. Auch liegen überall in den Gewebelücken, besonders aber zwischen Somit, Aorta, Darm und Wolffschen Gängen, also an den Stellen, wo die Genitalanlage zu suchen ist, mesenchymatische Zellen, Blutgefässzellen und Blutkörperchen, die nur durch lange Übung von Urgeschlechtszellen zu unterscheiden sind.

Stadium C: 10 Tage p. c.

Im nächstfolgenden jüngeren Stadium (Fig. 10 und 11) kann man noch von einer ganzen Zahl von Zellen mit Bestimmtheit aussagen, dass sie Urgeschlechtszellen sind, und kann danach auch die Lage der Genitalregion noch bestimmen, daneben werden sich aber immer Zellen und zwar recht zahlreiche finden, von denen man trotz aller Übung und eingehendster Prüfung nicht sagen könnte, wohin sie gehören und welchen Organanlagen sie zuzurechnen sind. Der Embryo hat, je jüngere Stadien wir wählen, desto weniger und grössere Zellen, so dass also die Grösse als Unterscheidungsmerkmal zwischen Urgeschlechts- und Somazellen wegfällt, ausserdem sind in den jüngeren Stadien die Vorratsstoffe in Gestalt von Dotterplättchen auf alle Zellen verteilt; es fällt also auch dieses Unterscheidungsmerkmal weg. Endlich nähert sich die Mehrzahl der ruhenden Kerne in ihrer Färbbarkeit der der Kerne der Urgeschlechtszellen. Ausserdem aber — und das ist ein zweiter sehr wichtiger Punkt — scheinen die Urgeschlechtszellen selber ihren Charakter zu ändern, vor allem treten die eigenartigen lappigen Formen der Kerne und die Nucleolen noch nicht auf. Jedenfalls können diese letzteren Formen auf noch früheren Stadien in keiner Weise unterschieden und nachgewiesen werden. Während vorher trotz der zunehmenden Ähnlichkeit mit somatischen Zellen doch immer noch gewisse morphologische Merkmale,

feine Färbenüancen eine Unterscheidung wenigstens an einigen Zellen möglich machten, hört dieser Unterschied ganz plötzlich völlig auf. Es ist also klar, dass alle Angaben, die in noch jüngeren Stadien sagen, die und die Zellen sind die Urgeschlechtszellen, nicht allzuviel Objektivität beanspruchen können, denn alles deutet darauf hin, dass hier tatsächlich eine Entstehung von Urgeschlechtszellen, d. h. eine Umwandlung anderer Zellen in solche vom Aussehen der Urgeschlechtszellen vor sich geht. Es kann sich demnach meines Erachtens bei einer weiteren Rückverfolgung nur darum handeln, festzustellen, woher der gesamte mesodermale Zellkomplex, der durch den unteren Rand des Somits, den Wolffschen Gang, die Seitenplatte und das Entoderm eingeschlossen ist, stammt, dem, wie wir gesehen haben, die Urgeschlechtszellen entstammen, und zwar in dem Sinne entstammen, dass sie sich aus seinen Zellen differenzieren.

Stadium B: 7—8 Tage p. c.

Betrachten wir zu diesem Zwecke ein 2—3 Tage jüngeres Tier. Querschnitte durch die ersten drei Somitenpaare zeigen die Entstehung der Vornierenkanälchen (Fig. 12). Die übrigen zeigen etwa folgende Gliederung des Mesoderms. Dorsal sind die Somite getroffen, deutlich geschieden in Myotom und Sklerotom, während das Nephrotom nur an einigen Stellen gut zu unterscheiden ist. Darunter folgt, der äusseren Körperwand zugekehrt, der Wolffsche Gang, ohne Lumen, in seinem vorderen Verlauf frei (Fig. 13), im hinteren Ende verwachsen mit der Seitenplatte; ferner, dem Darm zugewandt, in gleicher Höhe mit dem Wolffschen Gang, der eben angedeutete Zellkomplex, in seinem vorderen Verlauf deutlich getrennt vom Wolffschen Gange, im hinteren Ende etwas tiefer liegend als der Wolffsche Gang und eng mit ihm verbunden. Er bildet mit der Anlage der Wolffschen Gänge — denn man kann nur erst von einer Anlage sprechen, da der Mangel eines Lumens ein Funktionieren ausschliesst — im hinteren Ende eine einheitliche Anlage, den Mesodermhals oder Mesodermstiel, und dieser Mesodermstiel verbindet die Seitenplatte mit dem Somit (Fig. 14). An einigen Stellen der Schnittserie kann man noch mit ziemlicher Sicherheit in dem dem Entoderm zugekehrten Teil des Mesodermstiels den Charakter der Urgeschlechtszellen darin erkennen, so z. B. in Fig. 15,

jedoch kann man von einer messbaren Anlage, die sich unter so und soviel Somiten erstreckt, nicht mehr reden. Die angeführten Bilder weisen auf die Herkunft der Urgeschlechtszellen — unter der oben gemachten Einschränkung! — aus dem Mesodermstiel hin, wie ich mich denn auch hinsichtlich der Entstehung der Wolffschen Gänge der Ansicht anschliesse, dass sie sich in ihrer ganzen Ausdehnung aus dem Mesodermstiel entwickeln. In welcher Weise sich jedoch dieses Entstehen der Urgeschlechtszellen aus dem Mesodermstiel abspielt, entzieht sich vollkommen meiner Beurteilung.

Stadium A: 5—7 Tage p. c.

In noch jüngeren Stadien zeigt sich, dass tatsächlich auch die vordersten auf die Vornierenanlage folgenden Somite die gleiche Entwicklungshöhe haben wie im vorbeschriebenen die letzten. Es finden sich diese Bilder in den jüngsten Stadien, die ich für die Untersuchung in Betracht ziehen zu müssen glaubte, bei etwa 5—7 tägigen (p. c.) Embryonen mit 9—11 Somitenpaaren. Weiter abwärts in der Entwicklung zeigt sich das Mesoderm im Querschnitt nicht mehr differenziert, bis auch die Gliederung in Somite im Längsschnitt verschwindet, das Medullarrohr sich öffnet, und wir die genügend beschriebenen drei einfache Blätter aufweisenden Embryonen vor uns haben (Eyclesheymer [1895]). Die Zellen sind in diesem Stadium morphologisch gleichwertig.

Kapitel II.

Ehe ich nun alle bisher beschriebenen Befunde zusammenfasse und ausdeute, um einen Überblick über den mutmasslichen Gang der Entwicklung für die Urgeschlechtszellen von ihrem frühesten erkennbaren Auftreten bis hinauf zum Ausgangsstadium der Untersuchung zu geben, muss ich noch einen wichtigen Punkt erledigen, das ist die Frage: Welche Bedeutung haben die den Urgeschlechtszellen ähnlichen Zellen?

Es fänden sich, wie wir sahen, in allen Stadien — in den jüngeren mehr, in den älteren weniger — Zellen, die in ihren morphologischen Merkmalen (Kernstruktur, Kernform, Plasmaeinschlüsse, Zellform und -grösse) ähnliches Verhalten wie die Urgeschlechtszellen zeigten (z. B. Fig. 4 und 5, Ext. U. G. Z.; Fig. 9, Chordazellen). Schon der Umstand, dass diese Zellen in älteren Stadien in geringerer Zahl vorhanden sind als in jüngeren (in den

jüngsten können sie nicht unterschieden werden), dass sie andererseits in allen Geweben auftreten, weist darauf hin, dass dieser morphologische Typus nicht der Ausdruck für ein einem bestimmten Gewebe eigentümliches funktionelles Verhalten ist. Wir haben uns vielmehr vorzustellen, dass es sich hier entweder um aufgespartes, einstweilen inaktives Zellenmaterial handelt, das den embryonalen Typus noch bewahrt hat, oder um Zellen, deren Tätigkeit allen Geweben in gleicher Weise — bis zu einem gewissen Zeitpunkt wenigstens — nötig ist. Dieses allen Geweben Gemeinsame ist das Bedürfnis nach einer Versorgung mit Nahrungsmaterial zu der Zeit, wo eine aktive Ernährung des Tieres noch nicht möglich ist. Die Zellen würden dann vielleicht dazu dienen, Dottermaterial für die sich teilenden und damit Energie verbrauchenden benachbarten Gewebezellen zu liefern. Ich meine nicht, dass sie Dotter produzieren oder aktiv anhäufen — wennschon das letztere nicht unmöglich wäre —, sondern dass es Zellen sind, die sich selber nicht teilen [1]) und infolgedessen das Dottermaterial entbehren können [2]) und es an andere Zellen, wenn diese ihren eigenen Dottervorrat erschöpft haben, abgeben. Das Verschwinden der stark dotterhaltigen Zellen fällt, was diese Auffassung glaube ich stützt, etwa mit dem Ausschlüpfen der Larve zusammen, also der Zeit, wo die Larve anfängt zu fressen.

Besonders charakteristisch und von den umgebenden Zellen scharf abgesetzt sind diese embryonalen Zellen im Ektoderm, während sie im Entoderm, besonders aber im Mesoderm, weniger von den umgebenden unterschieden sind. Das mag damit zusammenhängen, dass der Entwicklung nach das Ektoderm das älteste, das Mesoderm das jüngste Gewebe ist. Im ältesten, wo die übrigen Zellen schon viele Teilungen durchgemacht haben und schon ziemlich weit differenziert sind, fallen daher diese Zellen am meisten in die Augen, während sie in dem jungen mesodermalen Gewebe sich von den noch wenig differenzierten umgebenden nicht so scharf unterscheiden.

Schöne typische Belege für embryonale Ektodermzellen finden sich namentlich in der Umgebung der Hautsinnesorgane. Sie sind, wie Querschnitte zeigen, grösser als die benach-

[1]) Ich habe jedenfalls nie Mitosen darin beobachtet.

[2]) Dass sie selbst nicht assimilieren, darauf scheint mir die Chromatinarmut hinzudeuten.

harten Ektodermzellen, von Dotterplättchen, gelegentlich auch von Pigment, erfüllt. Der Kern, bald blass, bald etwas dunkler gefärbt, blasig aufgetrieben, enthält ein oder mehrere Nucleolen. Durch ihre ausserordentliche Grösse veranlassen diese Zellen, dass das dünne mehr oder minder deutlich zweischichtige Ektoderm an dieser Stelle, wo es meist einschichtig ist, aufschwillt. Und gerade aus solchen Bildern habe ich geschlossen, dass die stark dotterhaltigen Zellen des Ektoderms irgendwelche ernährungsphysiologische Funktion haben, da sie mit zunehmendem Alter in der Umgebung der Hautsinnesorgane, wo sie oft ringförmige Wülste bilden (Fig. 16 und 17), verschwinden, d. h. nach Abgabe des Dottermaterials die Charaktere der übrigen Ektodermzellen annehmen.

Von diesen embryonalen Ektodermzellen unterscheidet sich eine zweite Form stark dotterhaltiger Zellen des Ektoderms durch grösseren Pigmentreichtum. Ihr Habitus ist sonst dem der eben beschriebenen ähnlich, nur zeichnen sie sich durch ihren stärkeren Pigmentgehalt aus, so dass sie an Pigmentzellen, die ihre Pseudopodien eingezogen hätten, erinnern (Fig. 18). Am meisten tritt diese Ähnlichkeit an lebenden Tieren zutage, wenn man etwa ein Stück des Schwanzes oder Flossensaumes durch das Mikroskop betrachtet, da dann neben den pigmentierten Ektodermzellen zum Vergleich echte Pigmentzellen erscheinen.

In Übereinstimmung mit den neueren Untersuchungen von Meirowsky, Winkler, Loeb etc. neige ich nun der Ansicht zu, dass das Epidermispigment in der Epidermis selbst entsteht — im Gegensatz zu der älteren Auffassung, nach der es aus dem Corium einwandert —, und dass diese „pigmentierten Ektodermzellen" dabei eine Rolle spielen, vielleicht in der Weise, dass sie sich in die Pigmentzellen der Epidermis umwandeln. Zurzeit habe ich allerdings keinen zahlenmässigen Zusammenhang zwischen dem Verschwinden der pigmentierten Ektodermzellen und dem Auftreten der Epidermispigmentzellen feststellen können. Ich habe zwar Zählungen (auf einem eng umschriebenen Bezirk von der Grösse des mikroskopischen Gesichtsfeldes — am günstigsten war der untere Flossensaum dicht hinter der Cloake —) bei zahlreichen Embryonen und Larven angestellt. Es ergab sich aber, dass die Zahl der pigmentierten Ektodermzellen und die der Epidermispigmentzellen, wie auch ihre Summe, bei gleichaltrigen Tieren an den gleichen Stellen ausserordentlich verschieden ist.

Als einziges sicheres Ergebnis steht fest, dass die pigmentierten Ektodermzellen in den jüngsten Stadien, wo ja in fast allen Zellen körniges Pigment vorhanden ist, fehlen, dass sie dann in mittleren Stadien sehr zahlreich auftreten, um allmählich immer mehr abzunehmen und bald nach dem Verlassen der Eihülle zu verschwinden, und dass ungefähr zu gleicher Zeit, wo die Zahl der pigmentierten Ektodermzellen abnimmt, die ersten Epidermispigmentzellen auftreten. Interessant schien mir an diesen Zellen, dass die Pigmentkörnchen, wie Fig. 18 zeigt, immer um einen oder mehrere helle Höfe im Zellplasma gelagert sind und wie von diesen sezerniert erscheinen. Näher auf diese Fragen einzugehen, überhaupt diese Zellen in ihren möglichen Beziehungen zu den späteren echten Pigmentzellen weiter zu untersuchen, habe ich in Rücksicht auf das eigentliche Thema unterlassen. Jedenfalls gilt für diese Zellen, die einfach stark dotterhaltigen erstbeschriebenen und die pigmenthaltigen zuletztbeschriebenen, meines Erachtens, dass ein wirklicher genetischer Zusammenhang zwischen ihnen und den Urgeschlechtszellen nicht besteht, weder derart, dass die Zellen sich auf sehr frühen Stadien von den Urgeschlechtszellen abgezweigt hätten und degenerierte Urgeschlechtszellen wären noch umgekehrt, dass sie von den beobachteten Stellen auswandern und zu Urgeschlechtszellen werden. Hiergegen spricht vielmehr die ganze Entstehungsweise der Urgeschlechtszellen und die Tatsache, dass die Urgeschlechtszellen keinesfalls in dem Maße an Zahl ab- oder zunehmen, wie die Zahl der Ektodermzellen sich vermehrt oder verringert.

Kapitel III.

Versuchen wir nun, uns ein Bild von der Entwicklung der Geschlechtsanlage als Ganzes zu machen.

In den jüngsten Stadien liegt zwischen Ektoderm und Entoderm eingeschoben, mit dem Entoderm durch den ventralen Mesoblast verbunden und aus ihm vermehrt, das Mesoderm. Bei etwa 4—5tägigen Embryonen beginnt sich das Mesoderm in seinen dorsalen Teilen durch Furchen quer zur Längsachse in Somite zu gliedern, und zwar schreitet diese Gliederung von vorn nach hinten. Bei diesem Aufspalten des dorsolateralen Mesoderms streckt sich der Embryo. Seine Rückenlinie war etwa um ein Drittel oder die Hälfte kürzer als die Bauchlinie und dadurch

erschien er etwa bohnen- oder halbmondförmig. Unter dem Einfluss dieser Streckung nimmt er mehr und mehr Spindelform an. Diese Streckung des Embryos halte ich für einen Vorgang, der für das Verständnis gewisser Erscheinungen in der Genitalanlage von Bedeutung ist. Betrachten wir also das Verhalten der unter den entstehenden Urwirbeln gelegenen Mesodermteile während der Streckung. In den vorderen drei Somitenpaaren, den Bildnern der Vorniere, bleiben Somit, Mesodermstiel und Seitenplatte im Zusammenhang. In den nächstfolgenden bis zur Einstülpung des Proktodeums, also etwa bis zum 18. Somitenpaar — die Lage der Cloake variiert zwischen dem 17. und höchstens 20. Somitenpaar — trennt sich das Somit vom Mesodermstiel ab. Der Mesodermstiel selbst teilt sich etwa vom 5.—6. Somit bis einige Somite vor der Cloake durch eine vertikale Spalte in zwei Anlagen (Fig. 13, 15). Die ektodermwärts gelegene ist die Anlage des Wolffschen Ganges. Und zwar scheint bei dieser Abtrennung eine Art Drehbewegung vor sich zu gehen, welche durch die ungleichen Widerstände auf der lateralen und medialen Seite und die vielleicht dadurch zum Teil bedingte Richtung der Zellteilungen hervorgerufen wird (Textfig. 1). Der übrigbleibende Teil des Mesodermstieles, also der dem Entoderm zugekehrte, biegt symmetrisch zur Anlage des Wolffschen Ganges nach der anderen Seite um und löst sich ebenso wie die Anlage des Wolffschen Ganges von der Seitenplatte los, jedoch später als dieser. Diesem Teile des Mesodermstieles gehören die ersten beobachteten Urgeschlechtszellen an (Fig. 15. Vgl. Kapitel I, Stadium B, C). Einige seiner Zellen „werden" zu Urgeschlechtszellen, indem sie sich aus Zellen mit durchaus indifferenten, embryonalen Charakteren zu Zellen mit ganz bestimmt

Fig. 1.

determinierten Qualitäten differenzieren, die in ihrer eigenartigen Morphologie zum Ausdruck kommen. Es ist das „Gonotom".

Die eben geschilderten Vorgänge kommen auf manchen Querschnittbildern fast schematisch genau zum Ausdruck. Es zerfällt das Mesoderm in drei Teile, die durch zwei horizontale Ebenen voneinander getrennt sind: der mittelste der drei, der Mesodermstiel, ist durch eine zu den beiden vorigen verticale Ebene wieder in zwei gleiche Teile geteilt. Diese Bilder finden sich jedoch nur unmittelbar unter den Urwirbeln, von den auf die Vornierenanlage folgenden Somitenpaaren an bis kurz vor der Einmündung der Wolffschen Gänge in die Cloakenanlage. Ventral von Somitlücken ist der Mesodermstiel dagegen in zwei sehr ungleiche Teile geteilt, und zwar ist das Gonotom kleiner. Das Gonotom zeigt also schon auf diesem Stadium nahezu regelmässige metamere An- und Abschwellungen. In den ersten auf die Vornierenanlage folgenden Somitenpaaren tritt das Gonotom nicht regelmässig auf, in den letzten drei vor der Cloake scheint es stets zu fehlen.

Im nächstfolgenden Stadium, einem 7tägigen (p. c.) Embryo des Laichs vom 8. August 1910, der etwa einem 8—10tägigen Tier der zugrunde gelegten Serie entspricht, haben wir dagegen eine messbare Genitalanlage. Sie besteht, wenn auch nicht näher einzuordnende Zellen in ihr auftreten, der Hauptsache nach aus typischen Urgeschlechtszellen. Diese Anlage reicht vom 8.—15. Somitenpaar und ist rein metamer angeordnet. Unter jeder Somitlücke liegt ein Einschnitt — dem 12. und 14. Somitenpaar fehlen in unserem Falle die Urgeschlechtszellen (siehe Schematafel: 7 Tage). Ähnliche Anordnung findet sich etwa bis zum 8., 9. und 10. Tage nach der Eiablage, und es mag der geschilderte Befund als Schema für die erste messbare Genitalanlage dienen. Die jüngste nachweisbare Genitalanlage ist fast stets rein metamer, paarig und symmetrisch.

Wie haben wir uns nun deren Entstehung aus dem Gonotom zu denken? Dass sich aus dem an einzelnen Stellen eingeschnürten Gonotom eine segmentierte Leiste bildet, ist ohne weiteres nach den vorigen Betrachtungen über die Mechanik der Streckung des Embryos verständlich. Wir brauchen nur anzunehmen, dass die Querspaltung des Mesoderms in Somite bis in das Gonotom hereinreicht. Den Wolffschen Gang braucht diese Segmentierung

nicht zu berühren. Er löst sich von der Seitenplatte und dem Gonotom los und bleibt nur in den vorderen Somiten (Vornierenanlage) mit dem gesamten Mesoderm, ähnlich in den letzten Somiten mit der Seitenplatte verbunden. Hier tritt dann auch eine Art Segmentierung auf, insofern er mir leise An- und Abschwellungen zu zeigen scheint (siehe auch den ausserordentlich grossen Querschnitt des Wolffschen Ganges in Fig. 19); doch mag das in manchen Fällen eine sekundäre Erscheinung, vielleicht auch durch das Fixieren entstanden sein.

Wie werden jedoch aus Gonotomzellen Urgeschlechtszellen? Ich habe zunächst versucht, einen zahlenmässigen Zusammenhang zu finden. Jedoch ist die Zählung der Kerne, weil sie bald gebogen, bald viellappig sind, schwer und gibt, da man sich nicht überall darüber klar wird, ob es sich um Kernstücke oder ganze Kerne handelt, nur unzuverlässige Zahlen. Zudem sind auch hier schon die Anlagen ausserordentlichen individuellen Schwankungen unterworfen, sowohl hinsichtlich der Länge und Dicke, als auch hinsichtlich der Zahl ihrer Kerne. Ich habe deshalb, wie schon in Kapitel I angezeigt, nicht feststellen können, in welcher Weise die Urgeschlechtszellen mit ihrem eigentümlichen charakteristischen Habitus aus den ihnen unähnlichen Zellen des Gonotoms abzuleiten sind. Grösseren Pigmentreichtum und Pigmentanhäufungen in der Plasmahaut einiger Gonotomzellen habe ich in den Zwischenstadien beobachtet. Ob aber Gonotomzellen durch fortgesetzte Teilung zu Urgeschlechtszellen werden — was an sich bei der Grösse und dem Dotterreichtum der Urgeschlechtszellen recht unwahrscheinlich ist —, oder ob Gonotomzellen sonst in irgend einer anderen Weise sich zu Urgeschlechtszellen umbilden, etwa durch Kernkopulation, wie es von einigen Autoren für die sekundären Urgeschlechtszellen angegeben wird, habe ich in keiner Weise aufklären können. Mitosen sind im Gonotom, wenn auch nicht zahlreich, so doch stets vorhanden; ich kann aber nicht behaupten, dass sich die Teilprodukte oder die Kernteilungsfiguren von dem Typus der umgebenden Zellen unterschieden hätten. Bilder, die sich als Kernkopulation hätten deuten lassen, habe ich nie beobachtet. Trotzdem sich aber die Art und Weise, wie die Urgeschlechtszellen aus Gonotomzellen entstehen, unserer Beobachtung entzieht, muss dennoch das Gonotom, und nur es allein, als die Stelle gelten, an der sich Urgeschlechtszellen bilden

oder in der sie schon enthalten sind, einfach deshalb, weil es schlechterdings nicht verschwinden und an seiner Stelle die Urgeschlechtsanlage da sein kann. Es müssen vielmehr unbedingt die Zellen des Gonotoms oder wenigstens einige seiner Zellen mit Urgeschlechtsmutterzellen (Haecker [1911]) identisch sein. Ich meine deshalb, diesen Teil des Mesodermstiels zu Recht als „Gonotom" bezeichnet zu haben.

Nachdem die erste messbare Anlage sich gebildet hat, gehen innerhalb der Anlage keine wesentlichen Veränderungen mehr vor. Urgeschlechtszellen in Teilung habe ich selbst bis in die ältesten Stadien nie beobachtet.[1]) trotz mannigfacher Versuche, durch Halten in fliessendem Wasser, in geheizten und durchlüfteten Aquarien, durch reichliche Nahrungszufuhr[2]) Zellteilung in stärkerem Maße hervorzurufen, und obgleich Tiere, die in Abständen von wenigen Stunden, auch während der Nacht konserviert, waren, zur Untersuchung herangezogen wurden. Scheint so die Genitalanlage in ihren Elementen sich nicht zu ändern, so macht sie doch — passiv — Wandlungen in ihrer äusseren Form- und Lagebeziehung durch. Darüber belehren uns ausser den in Kapitel I angeführten Figuren die Bilder der Schematafel und die Rekonstruktionsbilder.

Zunächst schiebt sich von dem breiten oberen Ende der Seitenplatte ein schmales Band, im Querschnitt eine Spitze, unter den Urgeschlechtszellen hervor und in den Raum zwischen ihnen und dem Entoderm hinein. Gleichzeitig streckt sich die ganze Seitenplatte und mit ihr die Urgeschlechtszellen und der Wolffsche Gang, die, nahe aneinander geschmiegt und stellenweise wieder scheinbar miteinander verwachsen, auf der Seitenplatte ruhen, in die Höhe und biegt nach innen um, sodass das gesamte terminale Ende mit Wolffschem Gang und Urgeschlechtszellen aus der Lage seitlich vom Darm mehr über diesen zu liegen kommt. Der Abstand zwischen Ektoderm und Entoderm vergrössert sich nämlich in dem Maße, wie das Entoderm sein Dottermaterial abgibt, sich differenziert und in die Länge streckt. Dadurch mag dann der Druck der Entodermmasse auf das Meso-

[1]) Hierzu sei jedoch bemerkt, dass Herr Professor Haecker bei einer zwei Monate alten Larve Urgeschlechtszellen in Teilung beobachtet hat.

[2]) In Gestalt von zerriebener Leber, was die Gesamtentwicklung sehr günstig beeinflusst und zahlreiche Mitosen somatischer Zellen zwei bis drei Tage nach der Verabreichung hervorruft.

derm geringer werden und die Seitenplatte, die durch zahlreiche rasch aufeinanderfolgende Zellteilungen, besonders im ventralen Mesoblast weiter an Volumen zunimmt, sich gerade in der beschriebenen Weise entwickeln. Diese Wachstumsrichtung behalten die beiden Seitenplatten solange bei, bis sie sich — das Entoderm hat inzwischen ein Lumen ausgebildet und ist im Querschnitt allmählich noch kleiner geworden — über dem Darm immer mehr einander nähern und schliesslich berühren. An dieser Bewegung nimmt die Genitalanlage und der Wolffsche Gang teil, sodass sie beide, nun etwas auseinandergerückt, schliesslich dorsal vom Darm auf der Seitenplatte liegen. Eine Annäherung der beiden Genitalanlagen über dem Darm und der Seitenplatte bis zur Berührung oder Verwachsung, wie sie Dustin (1908) für Triton beschreibt, die dann eine einzige unpaare Anlage vortäuscht, und die bei den Anuren immer wieder als unpaare erste Genitalanlage beschrieben wird (Kuschakewitsch, Allen [1907]), habe ich nicht beobachtet. Vielmehr bleibt die Anlage von Anfang bis zu Ende paarig. Berücksichtigen wir nun, dass die die Anlage umgebenden Gewebe sich in gleichem Schritt weiter entwickelt haben, so sind wir mit der geschilderten Lage beim Ausgangsstadium, der frischgeschlüpften Larve (Stadium J), angelangt.

Wir müssen jedoch noch die Veränderungen der Genitalanlage in ihrer äusseren Form während der geschilderten Lageverschiebung betrachten. Diese Formveränderung besteht einerseits in einer Ausgleichung der An- und Abschwellungen innerhalb der einzelnen kleinen Anlagen derart, dass wir schliesslich einzelne kurze Genitalzüge von annähernd gleichem Querschnitt vor uns haben, andererseits in einer Streckung der einzelnen kleinen Anlagen bis zur Berührung miteinander, so dass am Ende der Embryonalentwicklung zwei kontinuierliche Stränge von annähernd gleicher Länge und in ihren einzelnen Teilen von gleichem Querschnitt vorhanden sind. So einfach an sich der Weg vorgestellt werden muss, auf dem sich aus einer segmentierten relativ dicken Anlage eine unsegmentierte dünne entwickelt, so zeigen doch die Befunde an Zwischenstadien recht erhebliche Unterschiede voneinander, und zwar erstrecken sich diese Unterschiede sowohl auf die Änderung der Länge als die der Dicke. Ein Blick auf die Schematafel belehrt uns über die ausserordentliche Verschieden-

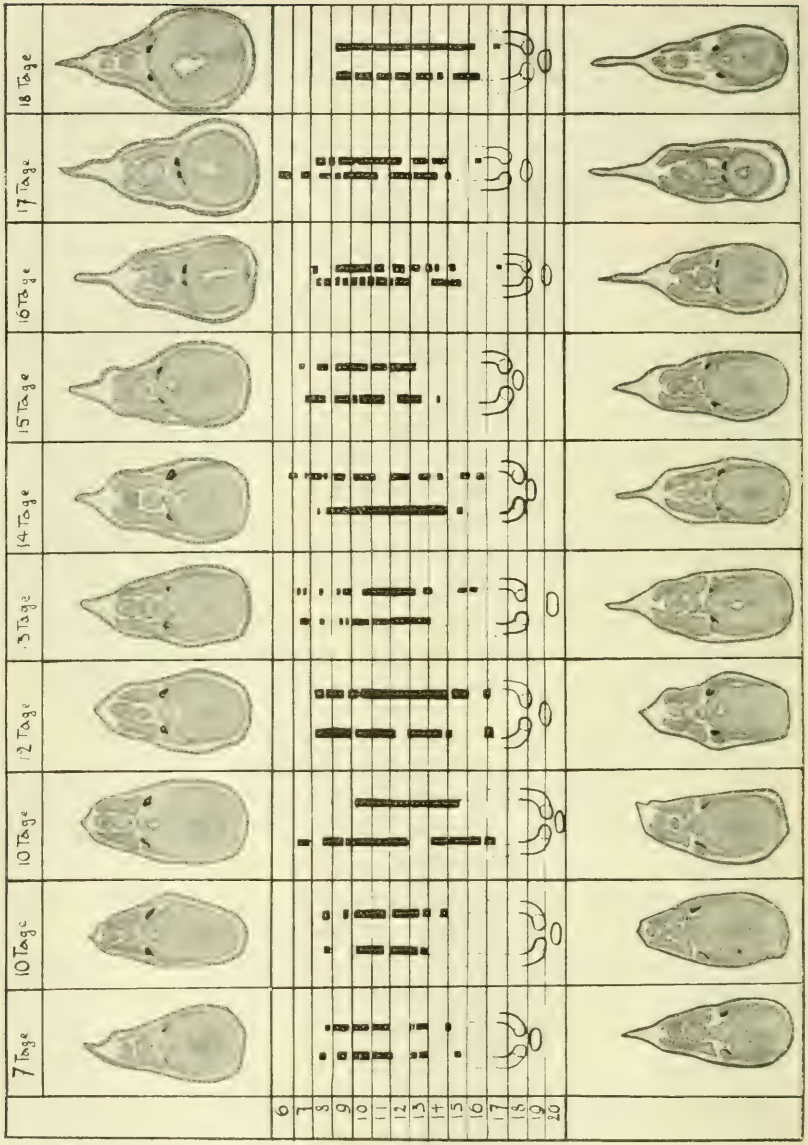


Fig. 2.

Schematische Darstellung der Längsausdehnung der Genital-Anlagen verschiedener Altersstufen.

Die Schemataf el zeigt in der mittleren Tabelle, ohne Rücksicht auf die Dicke der Genitalanlage zu nehmen, ihre Ausdehnung in der Längsrichtung, bezogen auf Somite (dargestellt in Parallelprojektion auf die Horizontalebene). Die am Kopf und Fuss jedes einzelnen Stadiums angebrachten schematischen Querschnitte sollen die Lage der Keimleiste in ihrem vordersten und hintersten Auftreten im Embryo veranschaulichen. In der mittleren Tabelle ist ausserdem die Lage der Cloake und der Einmündung der Wolffschen Gänge in sie dargestellt. Alter und Somitzahl ist aus den betreffenden Rubriken zu ersehen.

heit der Längenveränderung: das Gleiche zeigt die Tabelle Halls (1904) für noch ältere Stadien.

Die Genitalanlagen der einzelnen abgebildeten Stadien (siehe Erklärung) unterscheiden sich in drei Punkten voneinander. Erstens weichen Länge, Lagerung und Anordnung der benachbarten Stadien voneinander ab. Zweitens ist die Zahl, Lage und Grösse der Unterbrechungen verschieden. Drittens sind die beiden Genitalanlagen derselben Tiere in ihrer Länge und Anordnung untereinander verschieden.

Die ausserordentlichen Längenunterschiede der Genitalanlage bei Tieren von geringem Altersunterschied dürfen meiner Ansicht nach nicht mit Entwicklung der einen aus der anderen begründet werden. Eine derartige Streckung und wieder folgende Verkürzung, wie man sie danach annehmen müsste, wäre wohl in Abständen von 24 Stunden kaum möglich, zudem wäre der Zweck einer solchen rhythmischen Veränderung nicht einzusehen. Schliesslich spricht gegen eine solche Auffassung auch die wechselnde Lage der Cloake und der Einmündung der Wolffschen Gänge in sie, denn eine wirkliche von Tag zu Tag sich ändernde Lage dieser Öffnungen wird in Wahrheit niemand annehmen wollen. Ich glaube vielmehr, Längenunterschiede der Genitalanlage in diesen Stadien auf die gleichen Unterschiede der frühesten Anlagen, vielleicht schon des Gonotoms zurückführen zu müssen. Es herrscht schon da, wie überhaupt in der ganzen weiteren Entwicklung, ausserordentliche individuelle Verschiedenheit. Wir könnten dann von zwei Extremen ausgehen, und es handelte sich dann in der Entwicklung in dem einen Fall um eine Streckung, im anderen Fall um eine Verkürzung der Anlagen auf das Maß der bei frischgeschlüpften Larven festgestellten Anlage, oder — denn nach Halls Angaben scheint die Länge auch hier noch Schwankungen unterworfen zu sein — auf das Maß noch älterer Stadien. Unter dieser Voraussetzung ist auch das Schwanken der Anlagelücken nach Grösse, Zahl und Lage zu verstehen.

Die bei den meisten Embryonen, besonders kurz vor dem Ausschlüpfen, auftretende Asymmetrie der beiden Anlagen bezüglich ihrer Länge wird vielleicht erklärt durch die Lagerung des Embryos im Ei. Nachdem sich der Embryo nämlich gestreckt hat (siehe Kapitel III oben), wird er allmählich, besonders durch die Aus-

bildung des langen Ruderschwanzes, zu lang für die Dimensionen der innersten Eihülle. Er krümmt sich bei zunehmendem Längenwachstum in der Frontalebene halbkreisförmig bis hufeisenförmig ein. Dadurch wird die eine Seite des Embryos, die innere, konkave des Halbkreises verkürzt, während die andere sich streckt. Diese jederseits verschiedene Zug- und Druckbeanspruchung mag nun auch die Gestaltung der Genitalanlage beeinflussen, derart, dass die Anlage der einen Seite verkürzt, die der anderen verlängert wird. Ebenso wie ich Beispiele habe, dass unter der Wirkung der Lagerung im Ei die eine Seite des Embryos ein Somit mehr ausbildet als die andere. So könnte man jedenfalls verstehen, wie eine an sich rein symmetrische Anlage anscheinend asymmetrisch wird. Zudem wäre damit der Umstand zu vereinigen, dass die Genitalleisten der geschlüpften Larven wieder gleich lang sind, denn zu der Zeit ist die Beanspruchung auf beiden Seiten gleichsinnig.

Hand in Hand mit der Veränderung der Länge geht auch die Veränderung und Ausgleichung der Dicke. Diese geschieht jedenfalls durch Auswandern von Zellen aus Anschwellungen der Anlage und ihr Einwandern in Abschwellungen, also durch aktive oder passive Zellbewegungen.

Bei diesem gegenseitigen Verschieben der Zellen kommen nun, so stelle ich mir vor, Unregelmässigkeiten vor, derart, dass Zellen aus dem Zellverbande herausgedrückt werden und sich schliesslich vollkommen abtrennen. Dieses Austreten aus der Genitalleiste kann damit in Zusammenhang gebracht werden, dass senkrecht in die Aorta einmündende, an der Darmperipherie verlaufende, intersegmental angeordnete Blutgefässe die Seitenplatte und damit die auf ihr ruhende Genitalanlage nach oben vorwölben. Dadurch würden Urgeschlechtszellen in Somitlücken emporgedrückt und wie man vielleicht annehmen darf, so fest an die Somitwände gepresst, dass sie mit ihnen verwachsen (Fig. 5) und auch, wenn die Anlage sich allmählich streckt, dünner wird und von den Somiten zurückweicht, verwachsen bleiben, sodass sie von der Anlage abreissen. In ähnlicher Weise scheinen auch andere Gewebslücken, z. B. die zwischen horizontal über den Urgeschlechtszellen verlaufenden kleinen Blutgefässe, gelegentlich in sie hineingepresste Urgeschlechtszellen festzuhalten. Das Endresultat wäre in beiden Fällen, wenn die

Urgeschlechtszellen sich völlig von der Anlage lösen, wahrscheinlich eine Umwandlung der Urgeschlechtszellen, durch die sie den Charakter der umgebenden Zellen annehmen. In dieser Weise möchte ich mir jedenfalls die in Kapitel I geschilderten Befunde erklären. Ich befinde mich damit, glaube ich, in Übereinstimmung mit Dustin, wenn man nach seiner schematischen Figur schliessen darf (vgl. übrigens die Angaben in Kapitel IV).

Kapitel IV.

Die nächste Aufgabe wäre nun, die weitere Entwicklung der Genitalleiste und das Schicksal der Urgeschlechtszellen, sonderlich ihren genetischen Zusammenhang mit den Oogonien und Spermatogonien, zu untersuchen. Dieser Aufgabe, so wichtig sie für die Bewertung der vorstehenden Ausführungen ist, habe ich jedoch nur zu einem Teil gerecht werden können. Einmal lag der Grund darin, dass die Entwicklung bis zur Geschlechtsreife rund 2 Jahre in Anspruch nimmt, die Untersuchungen sich aber nur über 17 Monate erstreckten. Auf der anderen Seite wurde der Laich durch das fortgesetzte Konservieren jüngster Stadien stark dezimiert, und da nur kräftige, lebensfähige Embryonen benutzt wurden, so blieb nur ein Rest von schwachen Tieren übrig, die sich sehr langsam und unregelmässig entwickelten oder starben, so dass meine Serien nur Tiere bis zum Alter von 50 bis 60 Tagen enthalten. Wenn ich diese fragmentarischen Untersuchungen dennoch mitteile, so geschieht das, weil sie immerhin einige Ergebnisse enthalten, die zu weiteren Untersuchungen, besonders über das Wesen der Urgeschlechtszellen und ihr Verhältnis zu den Somazellen, Material liefern können.

Betrachten wir zunächst die Weiterentwicklung der Genitalleisten. In den letzten Tagen der Embryonalentwicklung und den ersten Tagen des Larvenlebens bleiben die Verhältnisse so, wie sie im Ausgangsstadium beschrieben sind. Mit ungefähr 30 Tagen (p. c.) beginnt jedoch das Peritoneum sich weiter zu differenzieren. Es legt sich dem Wolffschen Gang und der Genitalleiste dicht an, so dass das Peritoneum in seinem dorsalen Teil jederseits zwei längs verlaufende Rinnen ausbildet, in denen Wolffscher Gang samt Vena renalis und Genitalleiste eingebettet sind. Im Alter von ca. 40 Tagen (p. c.) ist schliesslich die Genitalleiste in ihrer ganzen Peripherie von Peritoneum umwachsen und

hängt nun an einem zweischichtigen aus Peritonealepithel gebildeten Aufhängeband, allseitig vom Peritoneum umhüllt, in die Leibeshöhle hinein. Endlich dringt dies Epithel auch zwischen die einzelnen Genitalzellen — es sind jetzt etwa jederseits 75 locker hintereinander angeordnet deutlich zu unterscheiden — ein und umhüllt je ein bis mehrere mit einer Art Follikel, so dass die Genitalleiste ein etwa perlschnurartiges Aussehen gewinnt. Querschnitte (Fig. 20 und 21) zeigen neben dem Wolffschen Gang ein bis zwei neben- oder übereinander liegende, von einem besonderen Epithel umkleidete Urgeschlechtszellen und darüber die Anlage der Urnierenkanälchen. Man kann schon hier das Eindringen von Peritonealzellen in Zellücken beobachten. Noch weit deutlicher wird das auf Sagittalschnitten wie Textfig. 3 und Fig. 22. Der rechte Wolffsche Gang ist (siehe Textfig. 3) etwas schräg getroffen, über ihm liegen die Anlagen der einzelnen Urnierenkanälchen, in gleicher Höhe mit ihm die Genitalleiste. Während die Leiste auf jüngeren Stadien nur aus Urgeschlechtszellen bestand, enthält sie hier scheinbar noch andere Zellelemente. Jedoch sind alle diese Zellen weiter nichts als zwischen die Urgeschlechtszellen tief eingedrungene Hüllzellen, die durchaus dem Peritonealepithel angehören und mit ihm in Zusammenhang bleiben. Allmählich scheint sich jedoch der Zusammenhang zu lockern, denn später (Fig. 23) liegen die Hülizellen den einzelnen Urgeschlechtszellen eng an und werden bei der weiteren Differenzierung des Hüllepithels mit den Urgeschlechtszellen zusammen in die Tiefe verlagert. Die Genitalleiste zeigt dann auf Querschnitten eine Gliederung in drei Zellgruppen: zunächst Urgeschlechtszellen: diese von ein bis zwei Hüllzellen follikelartig umgeben: endlich ein bis zwei Urgeschlechtszellen mit ihren Hüllzellen wieder in einem Hüllepithel suspendiert.

Die erstgenannten Hüllzellen werden wahrscheinlich Follikelzellen, jedoch fehlt mir dafür das Beweismaterial.

Die weiteren Stadien zeigen noch einige interessante Bilder. Zunächst einmal verdickt sich das die Genitalfalte bildende äussere Hüllepithel. Seine Zellen vermehren sich, vergrössern sich und seine Kerne nehmen eine den Urgeschlechtskernen ähnliche Struktur an. Durch dieses Wachstum des Hüllepithels ändert sich das Bild der Genitalleiste. Wenn sie vorher etwa einem seitlich zusammengedrückten dünnwandigen Hohlzylinder zu

vergleichen war, in dem die Urgeschlechtszellen locker angeordnet und nicht eng mit seiner Wandung vereinigt lagen, so wird jetzt die Wandung des Hohlzylinders dicker und dringt

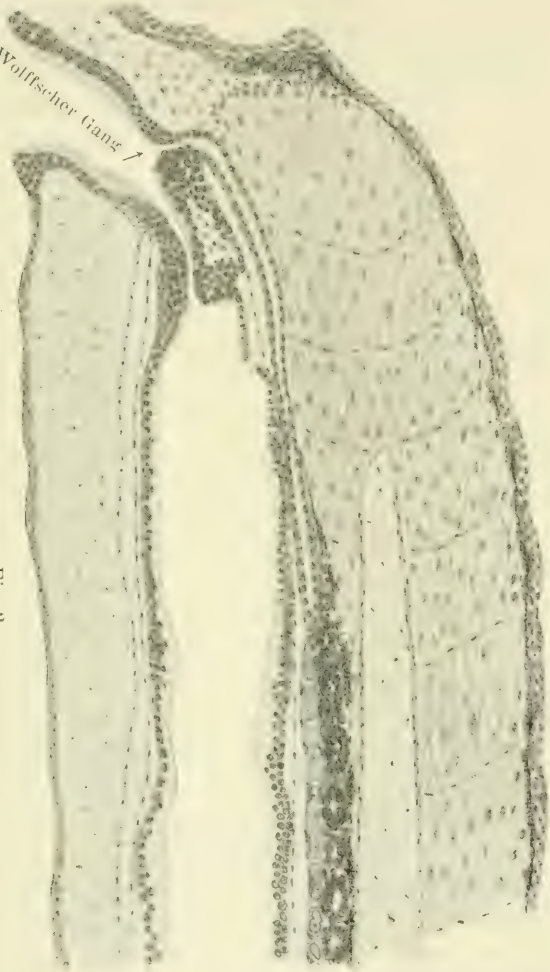


Fig. 3.
Sagittalschnitt durch Urnieren- und Urgeschlechtsregion der rechten Seite einer 30 Tägigen Larve.

gegen das Zentrum vor. Hierbei kommt es nun vor, dass Urgeschlechtszellen so zwischen Zellen des Hüllepithels verlagert werden, dass sie, besonders wenn auf dem Querschnitt gerade keine Follikelzelle (siehe oben) auftritt, als zum Hüllepithel gehörig angesehen werden können. Das Hüllepithel ist dann an der Aussenwand der Genitalleiste an einer solchen Stelle überhaupt nicht oder doch nur durch genauestes Vergleichen mit den benachbarten Schnitten nachzuweisen. Diese Bilder haben mich anfänglich veranlasst, zu glauben, dass Urgeschlechtszellen, die in der geschilderten Weise zwischen Hüllepithelzellen gelagert auftreten, zu Urgeschlechtszellen umgewandelte Peritonealzellen, also sekundäre Urgeschlechtszellen im Sinne der früheren Autoren seien. Wenn auch einzelne Fälle immer wieder zu der Annahme drängen, dass es sich hier um die Ausbildung sekundärer Urgeschlechtszellen handelt, so sprechen doch wieder andere Befunde dagegen. So kann man an Urgeschlechtszellen, die Follikelzellen besitzen und ganz zweifellos primäre sind, also der in Kapitel I und III gefundenen Entwicklung angehören, auch das Hüllepithel an der Aussenwand der Genitalleiste nicht nachweisen. Aus diesem Grunde und deswegen, weil mein Material für diese Stadien recht spärlich ist, möchte ich die Bildung sekundärer Urgeschlechtszellen nicht behaupten. Etwas an sich Undenkbares wäre es nicht, dass sich Zellen des Hüllepithels zu Urgeschlechtszellen differenzieren, denn, wie die Entwicklung des Mesoderms zeigt, sind ihre Entstehungsorte (Mesodermstiel und Seitenplatte) nahe benachbart.

Ausserdem möchte ich noch folgendes erwähnen. Es treten in einigen Schnitten über dem Wolffschen Gang, also weit entfernt von den Genitalleisten, typische Urgeschlechtszellen auf, und zwar mit den gleichen Charakteren wie die in der Leiste (Fig. 24). Von da ab, wo zuletzt extraregionale Urgeschlechtszellen beobachtet wurden (Kapitel I, Stadium G), also vom 18. Tage (p. c.) bis zu diesem Stadium, 48 Tage (p. c.), habe ich in Zwischenstadien keine extraregionalen Urgeschlechtszellen gefunden. Nun ist es jedoch merkwürdig, dass in diesem Stadium die extraregionalen Urgeschlechtszellen im Schnitt an der gleichen Stelle oder in der Nähe liegen, wo sie in der Entwicklung zuletzt auftraten. Wenn man in Betracht zieht, dass das Auftreten von extraregionalen Urgeschlechtszellen im ersten Fall eine Anomalie

darstellte, jedenfalls für die Weiterentwicklung der Genitalleiste von keiner Bedeutung war, so muss man mit der Möglichkeit rechnen, dass die Zwischenstadien deswegen keine extraregionalen Urgeschlechtszellen aufwiesen, weil bei den betreffenden Individuen diese Anomalie von Anfang an fehlte; aber man darf mit demselben Recht u. a. auch annehmen, dass man sie deswegen nicht findet, weil sie den Charakter der umgebenden Zellen angenommen haben. In diesem Fall würde man das jetzige Auftreten von typischen Urgeschlechtszellen zwischen Somit und Wolffschem Gang verstehen können. Sie wären dann extraregionale Urgeschlechtszellen, die zu Somazellen vorübergehend umgebildet waren, ihren ehemaligen Charakter aber sekundär wieder angenommen haben. Andererseits muss man jedoch auch die dritte Möglichkeit zugeben, dass es aus somatischen Zellen völlig neu gebildete Urgeschlechtszellen sein können. Ich kann mich jedoch mit dieser Auffassung nicht befreunden, weil das Verschwinden der ersten und das Auftreten der jetzigen extraregionalen Urgeschlechtszellen örtlich fast zusammenfällt.

Dass diese etwa noch in die Genitalanlage gelangen, scheint mir bei der Entfernung und den Hindernissen unwahrscheinlich zu sein. Es werden deswegen diese ausserhalb der eigentlichen Anlage auftretenden Urgeschlechtszellen ebenso wie die in jüngeren Stadien auftretenden extraregionalen Urgeschlechtszellen kein notwendiges Glied in der Entwicklung der Genitalanlage sein. Vielmehr beteiligen sich an der Ausbildung der Oogonien und Spermatogonien wahrscheinlich nur die in der Anlage befindlichen Urgeschlechtszellen, vielleicht unter Hinzutreten von solchen, die sich aus dem Hüllepithel differenzieren. Hier fehlt das Material.

Schluss.

Von Folgerungen für die vergleichende Entwicklungsgeschichte und die phylogenetische Stellung des Objektes abgesehen, möchte ich doch folgendes hervorheben. Die Urgeschlechtszellen von Amblystoma sind nicht Gebilde, denen schon vom sich furchenden Ei her eine besondere Stellung zukommt. Auch die erste Anlage der Urgeschlechtsmutterzellen, das Gonotom, ein bestimmter, vielleicht schon früh gesonderter Teil des Mesoderms, zeigt noch keinerlei Unterschiede gegen die umgebenden Mesodermzellen. Vielmehr differenzieren sie sich erst verhältnismässig spät etwa

beim 7—10 tägigen Embryo mit mehr als 9—11 Somiten in nicht näher festgestellter Weise aus morphologisch und demnach wohl auch physiologisch noch indifferenten Zellen zu Urgeschlechtszellen, denen von da ab ganz bestimmte morphologische und physiologische Charaktere zukommen. Jedoch können sie diese allein dadurch, dass sie sich aus dem Verband lösen, wieder einbüssen und zu somatischen Zellen werden. Andererseits bleibt die Möglichkeit offen, dass solche Zellen ihre Urgeschlechtszellcharaktere sekundär wieder ausbilden.

Nach diesen Befunden bin ich geneigt, die in der Einleitung näher bezeichnete Auffassung der Nussbaum-Balfourschen Schule ganz allgemein abzulehnen und schliesse mich der Meinung von Hoffmann, J. Mac Leod u. a. an.

Wenn sich aber tatsächlich Urgeschlechtszellen aus somatischen Zellen „differenzieren", so fragt es sich sehr, ob man bei Wirbeltieren berechtigt ist, einen prinzipiellen qualitativen Unterschied zwischen generativen und somatischen Zellen zu machen. Tornier (1911) hat gezeigt, dass bestimmte ungünstige äussere Bedingungen imstande sind, die Bildung von Urgeschlechtszellen vollkommen zu verhindern. Andererseits glaubt Levi (1905) konstatieren zu können, dass bei Larven, denen eine Genitalleiste durch operative Eingriffe völlig (?) zerstört wird, die Anlage aus somatischen Zellen regeneriert.[1]). Diese Angaben deuten doch vielmehr darauf hin, dass zwischen generativen und somatischen Zellen nur ein gradueller Unterschied besteht. Dass man — rein theoretisch betrachtet — die Urgeschlechtsmutterzellen auf einige wenige Mesodermzellen und diese dann wiederum auf Furchungszellen zurückführen kann, ist an sich klar. Dass diese aber von Anbeginn ihrer Entwicklung qualitativ von ihren Schwesterzellen verschieden sein sollen, kann ich nach meinen Befunden nicht für wahrscheinlich halten und auch die Angaben in der Literatur enthalten keinerlei Beweise dafür.

Wenn aber Zellen sich zu Urgeschlechtszellen differenzieren, dann ist mit der Rückverfolgung dieser ersten Zellen nichts gewonnen, ehe nicht die Bedingungen, unter denen die Differenzierung zu Urgeschlechtszellen, und ebenso die, unter denen ihre

[1]) Allerdings spricht ihm das nicht gegen die Lehre von der Präformation der Keimzellen, „vielmehr", meint er, „liegt die Vermutung nahe, dass die scheinbar somatischen Elemente der Keimbahn anzureihen sind."

Degeneration zu somatischen Zellen erfolgt, restlos festgestellt sind. Erst wenn das geschehen ist, wird sich zeigen, ob es Wert hat, auch die Herkunft der Urgeschlechtszellbildner zu studieren. Bis dahin sollte aber jede Untersuchung über das „Woher" der Urgeschlechtszellen da Halt machen, wo zum erstenmal somatische und generative Zellen klar und deutlich unterschieden auftreten. Alle darüber hinausgehenden Resultate sind zum guten Teil in die Objekte hineingesehen, zu Liebe einer Auffassung, die gern für Wirbeltiere eine ebenso frühzeitige Sonderung der generativen von den somatischen Zellen annehmen möchte, wie sie für einige Wirbellose erwiesen ist. Bis heute liegt jedoch von keiner Seite irgend ein wirklicher Beweis dafür vor, dass das der Fall ist. Vielmehr deutet alles darauf hin, dass sich die Wirbeltiere hier wesentlich anders verhalten.

Kurze Zusammenfassung.

Die Urgeschlechtszellen von Amblystoma entstehen nach meinen Ergebnissen aus dem entodermwärts gelegenen Teile des Mesodermstiels. Ihr erstes Auftreten ist bei 7—10tägigen Larven mit mehr als 9—11 Somiten zu beobachten, wobei jedoch mannigfache individuelle und durch äussere Einflüsse (Temperatur) hervorgerufene Schwankungen auftreten können. Die erste Anlage ist paarig, symmetrisch und segmental angeordnet (Textfig. 2).

Von da gelangen sie über den Darm, wo sie zur Zeit, wo die Embryonen die Eihüllen verlassen, eine ebenfalls symmetrische, paarige, nicht mehr segmentierte, sondern kontinuierliche Anlage bilden.

Diese Entwicklung während des Embryonallebens geschieht durch Längen- und Dickenänderung der ursprünglichen Anlage, wobei einige Urgeschlechtszellen sich ablösen und degenerieren. Mit diesen stehen dann in den Larven ausserhalb der Anlage auftretende Urgeschlechtszellen vermutlich im Zusammenhang. Ihr weiteres Schicksal ist nicht untersucht. Jedenfalls sind sie für die Entwicklung der Anlage von keiner Bedeutung.

Nach dem Ausschlüpfen der Larve umgeben sich die einzelnen Genitalzellen mit einer Art Follikel aus Peritonealzellen.

das Peritonealepithel umhüllt schliesslich die ganze Anlage. Die Ausbildung sekundärer Urgeschlechtszellen ist nicht erwiesen.

Die während der Embryonalentwicklung in allen Teilen des Embryos auftretenden den Urgeschlechtszellen ähnlichen Zellen stehen in keinerlei genetischem Zusammenhang mit diesen.

Halle a. S., den 6. Juli 1911.

Literaturverzeichnis.

Allen, B. M., 1905: The origin of the sex-cords and rete-cords of chrysemys. Americ. Journ. Anat., Vol. V.

Derselbe, 1906: The origin of the sex-cells of chrysemys. Anat. Anz., Bd. XXXIX.

Derselbe, 1907: An important period in the History of the sex-cells of Rana pipiens. Anat. Anz., Bd. XXXI.

Derselbe, 1907: Statistical study of the sex-cells of chrysemys. Anat. Anz., Bd. XXX.

Derselbe, 1909: The origin of the sex-cells of Amia and Lepidosteus. Anat. Rec. Philadelphia, Vol. III.

Assheton, 1908: The Development of Gymnarchus niloticus. Budg. Mem. Cambridge.

Balfour, 1878: A monography on the development of Elasmobranch Fishes. Bei Macmillan & Co., London.

Beard, 1900: The morphological continuity of the germ cells in Raja Batis. Anat. Anz., Bd. XVIII.

Derselbe, 1902: The germ-cells of Pristiurus. Anat. Anz., Bd. XXI.

Böhi, 1904: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Leibeshöhle und der Genitalanlagen bei den Salmoniden. Morph. Jahrbuch, Bd. XXXII.

Bouin, 1900: Ébauche génitale primordiale chez Rana temporaria. Note prél. Bibl. anat. VIII.

Derselbe, 1900: Histogénèse de la glande femelle chez Rana temporaria. Arch. Biol., T. XVII.

Boveri, 1887: Die Differenzierung der Zellkerne während der Furchung des Eies von Ascaris megalocephala. Anat. Anz., Bd. II.

Derselbe, 1892: Über die Bildungsstätte der Geschlechtsdrüsen und die Entstehung der Genitalkammern des Amphioxus. Anat. Anz., Bd. VII.

Derselbe, 1892: Über die Entstehung des Gegensatzes zwischen den Geschlechtszellen und den somatischen Zellen bei Ascaris megalocephala etc. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys., München, Bd. VIII.

Cunningham, 1887: Reproductive elements in Myxine glutinosa. Quart. Journ. micr. Sc., Vol. XXVII.

Dustin, 1908: Recherches sur l'origine des Gonocytes chez les Amphibiens. Arch. Biol., T. XXIII.

Ehrmann: Die Entstehung des melanotischen Pigments.

Eycleshеymer, 1895: The early development of Amblystoma punctatum with observation on some other vertebrates. Journ. Morphol., Vol. X.

Eigenmann, 1892: On the precocious segregation of the sex-cells in Micrometrus aggregatus. Journ. Morph., Vol. V.

Felix und Bühler, 1906: Entwicklung der Harn- und Geschlechtsorgane. In Hertwigs Handbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere. bei Gustav Fischer, Jena. Bd. III, T. I.

Fedorow, 1907: Über Wanderung der Genitalzellen bei Salmo fario. Anat. Anz., Bd. XXXI.

Field, 1891: The development of the pronephros and segmental duct in Amphibia. Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard Coll., Cambridge, U. S. A., Vol. XXI.

Gasparro, 1908: Osservazioni sull' origine delle cellule sessuali nel Gongylus ocellatus. Mon. Zool. Ital., Annuo XIX.

Goette, 1869: Untersuchungen über die Entwicklung des Bombinator igneus. Arch. mikr. Anat., Bd. V.

Haecker, 1897: Die Keimbahn von Cyclops. Arch. mikr. Anat., Bd. XLIX.

Derselbe, 1902: Über das Schicksal der elterlichen und grosselterlichen Kernanteile. Jena. Zeitschr. Naturw., Bd. XXXVII.

Derselbe, 1911: Allgemeine Vererbungslehre, bei Friedr. Vieweg & Sohn, Braunschweig.

Hall, 1904: The development of the mesonephros and the Müllerian duct in Amphibia. Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard Coll., Cambridge, U. S. A., Vol. XLV.

Hatscheck, 1884: Mitteilungen über Amphioxus. Zool. Anz., Bd. VIII.

Hoffmann, 1886: Zur Entwicklungsgeschichte der Urogenitalorgane bei den Anamnia. Zeitschr. wiss. Zool., Bd. XLIV.

Derselbe, 1889: Zur Entwicklung der Urogenitalorgane bei Reptilien. Zeitschr. wiss. Zool., Bd. XLVIII.

Jarvis, 1910: The segregation of the germ-cells of Phrynosoma cornutum. Prel. not. Biol. Bull. Woods Hall, Vol. XV.

Kuschakewitsch: Über den Ursprung der Urgeschlechtszellen bei Rana esculenta. Vorl. Mitt. Sitz.-Ber. Akad. München, Bd. XXXVIII.

Levi, 1905: Lesione sperimentali sull' abbozzo urogenitale di larva di Anfibî e loro effetti sull' origini delle cellule sessuali. Arch. Entw.-Mech., Bd. XIX.

Loeb, Leo, 1911: Über die Bildung des Pigments in der regenerierenden Haut. Arch. Entw.-Mech., Bd. 32, S. 87.

Ludwig, 1874: Die Eibildung im Tierreich. Arb. zool.-zoot. Inst Würzburg, Bd. I.

Maas, 1897: Über die Entwicklungsstadien der Vorniere und Urniere bei Myxine. Zool. Jahrbuch, Anat. Abt., Bd. X.

Mac Leod: Développement de l'appareil reproducteur femmelle des Téléostéens. Arch. Biol., T. II.

Meirowsky, E., 1908: Über den Ursprung des melanotischen Pigments der Haut und des Auges. Leipzig.

Mihalkowitz, 1885: (Mihalkowitz) Untersuchungen über die Entwicklung des Harn- und Geschlechtsapparates der Amnioten. Intern. Monatsschr. Anat. u. Phys., Bd. II.

Nussbaum, 1880: Zur Differenzierung des Geschlechtes im Tierreich. Arch. mikr. Anat., Bd. XVIII.

Derselbe, 1903: Zur Entwicklung des Urogenitalsystems beim Huhn. C. R. Assoc. des Anat., 5e sess. Liège.

Rubaschkin, 1908: Über die Urgeschlechtszellen bei Säugetieren. Anat. Hefte. I. Abt., Bd. XXXIX

Schreiner, 1904: Über das Generationsorgan von Myxine glutinosa. Biol. Zentralbl., Bd. XXIV.

Semon, 1887: Die indifferente Anlage der Keimdrüse beim Hühnchen und ihre Differenzierung zum Hoden. Jena. Zeitschr. Naturw.

Semper, 1875: Bildung und Wachstum der Keimdrüsen bei den Plagiostomen. Zentralbl. Med. Wiss.

Tornier, 1911: Vortrag, gehalten in der deutschen Gesellschaft für volkstümliche Naturkunde. Naturw. Wochenschr., Bd. XXVI, N. F. X.

Trinci, 1908: L'evoluzione dell' elemento cromatico nell' oogenesi dei Sauri durante il primo periodo postgoniale. Mem. Accad. Sc. Bologna, T. V.

Waldeyer, 1906: Die Geschlechtszellen. In Hertwigs Handbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere, bei Gustav Fischer. Jena. Bd. I.

Winkler, 1910: Studien über Pigmentbildung. Arch. Entw.-Mech.

Wilson, 1906: The cell in Development and Inheritance. Bei Macmillan & Co., London

Woods, 1902: Origin and Migration of germ-cells in Acanthias. Amer. Journ. Anat., Vol. V. 1.

Winiwarter und Sainmont, 1909: Nouvelles recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des Mammifères. Arch. Biol., T. XXIV.

Zarnick, 1903: Über die Geschlechtsorgane von Amphioxus. Zool. Jahrb., Anat. Abt. Bd. XXI.

Erklärung der Abbildungen auf Taf. IV und Va.

Allgemeine Bezeichnungen.

Aort. = Aorta.
Archent. = Archenteron.
Chord. = Chorda dorsalis.
Coel. = Coelom.
Cardiobl. = Cardioblast.
Ekt. = Ektoderm.
Ent. = Entoderm.
Ext. U. G. Z. = Extraregionale Urgeschlechtszelle.
Foll. Z. = Follikelzelle.
Gonot. = Gonotom.
H. Ep. = Hüllepithel.
Medull. = Medullarrohr.
Myot. = Myotom.
Nephrost. = Nephrostom.
Nephro. = Nephrotom.
Pigm. Z. = Pigmentzelle.
Pronephr. = Vorniere.
R. M. = Radix Mesenterii.
Simil. = Urgeschlechtszellen ähnliche Zellen.
Sklerot. = Sklerotom.
Som. = Somit
Sompl. = Somatopleura.
Splpl. = Splanchnopleura.
Stpl. = Seitenplatte.
Subchord. = Subchorda.
U. G. Z. = Urgeschlechtszelle.
ventr. Mesbl. = ventraler Mesoblast.
V. card. = Vena cardinalis.
V. s. = Blutgefäss.
W. G. = Wolffscher Gang.

Tafel IV.

Fig. 1. Querschnitt durch die Genitalregion einer frischgeschlüpften Larve. Stadium J.

Fig. 2. Querschnitt durch die Genitalregion eines 19tägigen Embryos, Stadium H.

Fig. 3. Frontalschnitt durch die Genitalregion eines 18tägigen Embryos, Stadium G.

Fig. 4. Querschnitt durch die Genitalregion eines 17—18tägigen Embryos mit extraregionalen Urgeschlechtszellen.

Fig. 5. Querschnitt durch die Genitalregion eines 18tägigen Embryos mit extraregionalen Urgeschlechtszellen, von denen die eine in das Somit hineinverlagert erscheint.

Fig. 6. Querschnitt durch das hinterste Ende der Genitalregion eines 14tägigen Embryos. Stadium F.

Fig. 7. Querschnitt durch den hinteren Teil der Genitalregion eines 17tägigen Embryos. Stadium E.

Fig. 8. Querschnitt durch die Genitalregion eines 12tägigen Embryos, Stadium D. Die Seitenplatte ragt nicht unter den Urgeschlechtszellen hervor.

Fig. 9. Den Urgeschlechtszellen ähnelnde Zellen des Entoderms und der Chorda dorsalis eines 12tägigen Embryos.

Fig. 10 und 11. Querschnitte durch das vordere und das hintere Ende der Genitalregion eines 10tägigen Embryos, Stadium C.

Tafel Va.

Fig. 12. Querschnitt durch einen 7—8tägigen Embryo, Stadium B. Der Schnitt durch die vordersten Somite geführt.

Fig. 13. Querschnitt durch einen 7—8tägigen Embryo, Stadium B. Der Schnitt durch das hintere Ende der Genitalregion geführt.
Fig. 14. Querschnitt durch das Mesoderm eines 7—8tägigen Embryos, Stadium B, an einer Stelle, wo es ungegliedert ist.
Fig. 15. Gonotom eines 6—7tägigen Embryos, Stadium B, mit Urgeschlechtszellen darin.
Fig. 16 und 17. Den Urgeschlechtszellen ähnelnde Zellen des Ektoderms aus der Umgebung einer Hautsinnesorgananlage.
Fig. 18. Pigmentierte Ektodermzelle in Aufsicht.
Fig. 19. Querschnitt durch Gonotom, Wolffschen Gang und Seitenplatte, der Querschnitt des Wolffschen Ganges ungewöhnlich gross.
Fig. 20. Querschnitt durch die Genitalregion einer etwa 40tägigen Larve.
Fig. 21 und 23. Querschnitte durch die Genitalregion ältester Larven.
Fig. 22. Sagittalschnitt durch die Urgeschlechtsanlage einer 30—40tägigen Larve. (Fig. 25.)
Fig. 24. Querschnitt durch die Genitalregion einer ältesten Larve mit einer extraregionalen Urgeschlechtszelle über dem rechten Wolffschen Gang.

Aus dem zoologischen Institut der Universität Berlin.

Über ein bemerkenswertes Strukturelement (Heterochromosom?) in der Spermiogenese des Menschen.

Von

Dr. S. Gutherz.

Hierzu Tafel VI und 2 Textfiguren.

Seitdem vor nunmehr zwanzig Jahren Henking durch seine grundlegenden Beobachtungen an Pyrrhocoris apterus die Lehre von den Heterochromosomen inaugurierte, hat unsere Kenntnis dieser Gebilde, namentlich im letzten Jahrzehnt, einen gewaltigen Umfang angenommen. Das hohe Interesse, welches man dem jüngsten Zweige der Zellkernforschung von verschiedenen Seiten entgegenbrachte, erklärt sich als ein zwiefaches. Einmal gelang es auf diesem Wege, zwischen den Chromosomen ein und desselben Zellkernes höchst bedeutsame Differenzierungen aufzudecken, sodann eröffnete sich zum ersten Male die Möglichkeit, morphologisch scharf charakterisierte Bestandteile des Kernes mit einer wichtigen Lebenserscheinung in funktionelle Beziehung zu setzen. Nur gewisse Typen der bereits in mehrfachen Erscheinungsformen bekannt gewordenen Heterochromosomen kommen in der letzterwähnten Hinsicht in Betracht, nämlich die von Boveri so genannten Geschlechtschromosomen. Für diese Chromosomenformen hatte man bereits seit mehreren Jahren angenommen, dass ihre verschiedene Verteilung auf die Spermien den gleichzeitig festgestellten verschiedenen Chromatinbestand der männlichen und weiblichen Individuen bedinge, neuerdings ist der direkte Nachweis hierfür von Morrill (bei Hemipteren) und von Gulick (bei Nematoden) durch Ermittelung eines fast lückenlosen Chromatinzyklus erbracht worden. Damit aber ist eine, wenn auch noch nicht als kausal erwiesene, Beziehung der Heterochromosomen zur Geschlechtsdifferenzierung sichergestellt.[1])

[1]) Näheres über den gegenwärtigen Stand der Heterochromosomen-Forschung findet sich in Wilsons (1911b) und des Verfassers (1911) zusammenfassenden Darstellungen, welch letztere die Frage nach einem etwaigen kausalen Zusammenhange zwischen Heterochromosomen und Geschlechtsdifferenzierung besonders eingehend behandelt.

Bis vor kurzem waren Geschlechtschromosomen nur im Tierkreise der Arthropoden, insbesondere bei Insekten bekannt.[1] Es erregte daher ein besonderes Interesse, als man in jüngster Zeit auch bei einer Reihe von Nematoden typische Geschlechtschromosomen nachzuweisen vermochte, und es konnte die Hoffnung entstehen, hier einer Erscheinung von allgemeinerer Verbreitung auf die Spur gekommen zu sein. So lag es nahe, neue Tiergruppen zur Untersuchung heranzuziehen, darunter auch die Vertebraten. Rasch wurden denn auch bei letzteren positive Befunde erhoben (Guyer, v. Winiwarter und Saintmont, Jordan, Stevens). Betrachtet man indessen die Abbildungen, welche von den Autoren ihren Mitteilungen beigegeben werden, so kann man sich in manchen Fällen des Eindruckes nicht erwehren, dass bei den höheren Wirbeltieren die von den Insekten her gewohnte, mitunter schematische Klarheit der Chromatinverhältnisse öfters vermisst wird. Diese Bemerkung gilt auch für Guyers letzte Publikation, die das wichtigste Objekt, dem wir unsere Arbeit widmen können, den Menschen, betrifft und bei ihm Geschlechtschromosomen konstatiert.[2])

Je wichtiger aber der Gegenstand einer Untersuchung ist, um so kritischer sollten wir bei der Feststellung der Tatsachen

[1]) Für zwei Echinidenarten hat Baltzer (1909) Chromatinelemente beschrieben, die an die gepaarten Geschlechtschromosomen der Insekten erinnern; ihre verschiedene Verteilung in der Oogenese soll einen Chromatindimorphismus der reifen Eier bedingen. Dieser Fall steht in der Literatur bisher vereinzelt da, während sonst ein derartiger Dimorphismus stets an den Spermien beobachtet wird.

[2]) Guyers (1910) Darstellung seiner Befunde am Menschen ist kurz die folgende. Die Chromosomenzahl der Spermiogonie beträgt 22. Im Kern der Spermiocyten finden sich zwei verschieden grosse, voneinander entfernt liegende chromatische Körper, die der Autor auf zwei Chromosomen der Spermiogonie zurückführt. In der ersten Reifungsmitose legen sich diese beiden Chromosomen zu einem die Zusammensetzung aus zwei verschieden grossen Komponenten noch zeigenden Gebilde zusammen und dieses Gebilde erfährt Heterokinese. So entstehen schliesslich zwei Sorten von Spermiden, deren eine im Kern wieder die beiden verschieden grossen chromatischen Körper getrennt zeigt, während die andere frei von ihnen ist. Die Chromosomenzahl in der Metaphase des Spermiocyten beträgt 12 (10 bivalente gewöhnliche Chromosomen und 2 Heterochromosomen), die Praespermidenmitose zeigt 5 bezw. 7 Chromosomen, was sich nach Guyer daraus erklärt, dass eine nochmalige Konjugation der gewöhnlichen Chromosomen stattgefunden hat.

und ihrer Deutung verfahren. Ich ergriff daher gern die sich mir bietende Gelegenheit, selbst menschliches Material zu untersuchen und die Angaben Guyers einer Nachprüfung zu unterziehen. Sind meine Resultate auch noch keine abschliessenden, so erscheint, wie ich meine, ihre Mitteilung im Hinblick auf das hohe Interesse des Gegenstandes berechtigt; auch sehe ich eine wesentliche Aufgabe der vorliegenden Publikation darin, die Anregung zu weiteren Untersuchungen zu geben, da bei einem so schwierigen und so schwer zu beschaffenden Objekt erst das Zusammenwirken verschiedener Forscher ein gesichertes Endergebnis herbeiführen dürfte.

Material und Technik der Untersuchung.

Das Hauptmaterial dieser Arbeit stammt von einem chirurgischen Falle (23jähriger Mann) und wurde von Herrn Professor H. Poll (Berlin), der es mir zur Untersuchung der hier behandelten Frage freundlichst überliess, lebenswarm in die Fixierungsmittel (Flemmings starkes Gemisch und Zenkersche Flüssigkeit) eingelegt. Ich möchte nicht verfehlen, Herrn Professor Poll auch an dieser Stelle für die Überlassung des kostbaren Objektes meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Diesen Hoden, welcher sich als in lebhaftester Entwicklung befindlich und vorzüglich fixiert erwies, werde ich im folgenden als Fall A bezeichnen.

Meinen verbindlichsten Dank sage ich sodann Herrn Professor Fr. Meves (Kiel), der mir, durch gütige Vermittelung von Herrn Professor Poll, Hodenstücke dreier Justifizierter (in Flemmings starkem Gemisch fixiert) liebenswürdiger Weise zusandte. Ich erhielt so ein ausserordentlich wertvolles Ergänzungsmaterial (Fälle BI–III). Sämtliche drei Stücke sind ausgezeichnet fixiert; Fall BI zeigt lebhafteste Spermiogenese, auf das Verhalten der beiden anderen Fälle wird noch zurückzukommen sein.

Als Färbungsmethode diente mir vorzugsweise Eisenhämatoxylin nach M. Heidenhain, ferner kamen das Biondische Gemisch, das nur am Zenker-Material, also lediglich am Fall A, angewandt werden konnte, und die Flemmingsche Dreifarbenmethode zur Benutzung. Die Schnittdicke betrug 5 oder 10 μ. Bei der Untersuchung der Präparate leistete mir die neue Zeisssche Mikro-Nernstlampe vortreffliche Dienste.

Methodologische Vorbemerkungen.

Ein völlig sicherer Nachweis jener Chromosomenformen, die wir wegen ihres abweichenden Verhaltens als Heterochromosomen bezeichnen, ist nur dann möglich, wenn es gelingt, die zusammenhängende Geschichte der Chromatinverhältnisse der betreffenden Stadien, insbesondere auch die genaue Chromosomenzahl während derselben zu verfolgen. Es sei hervorgehoben, dass dieses Postulat bei einer grossen Reihe von Insekten, die ja die typischsten Beispiele von Heterochromosomenträgern bilden, erfüllt ist. Da nun der Mensch, wie von vornherein gesagt sei, keineswegs zu jenen günstigen Chromatinobjekten gehört, vielmehr schon eine Ermittelung seiner Chromosomenzahl bei dem gegenwärtigen Stande unserer Technik auf ausserordentliche Schwierigkeiten stösst, so müssen wir, wenn wir hier sozusagen die Diagnose auf Heterochromosomen stellen wollen, unsere Zuflucht zu gewissen, weniger sicheren Kriterien nehmen, die wiederum im einzelnen von verschiedener Wertigkeit sind. Ein gutes Hilfsmittel zur Erkennung eines Heterochromosoms kann unter Umständen seine in der Metaphase der Mitose hervortretende eigentümliche Gestalt abgeben, aber dieses Vorkommnis ist nur bei wenigen Objekten (z. B. den Grylliden) beobachtet und kommt für unser Objekt nicht in Betracht. Wichtiger ist die bei der Geschlechtszellenbildung (namentlich der Spermiogenese) in einer der Reifungsteilungen häufig beobachtete Erscheinung der Heterokinese, die darin besteht, dass ein Chromosom (bezw. ein Chromosomenkomplex) ungeteilt bleibt und in nur eine Tochterzelle übergeht oder dass bei der Teilung zwei ungleich grosse Chromosomen (bezw. Chromosomenkomplexe) voneinander getrennt werden und verschiedenen Polen zustreben.[1]) Die einwandfreie Beobachtung einer Heterokinese darf, auch bei nicht genau bekannter Gesamtchromosomenzahl, als ausreichend für den Nachweis eines oder mehrerer Heterochromosomen gelten. Ein weniger sicheres Kriterium stellt die sogenannte Heteropyknose[2]) dar: sie äussert sich in einem verschiedenen Konzen-

[1]) Ich fasse den Begriff der Heterokinese hier weiter als bei seiner ersten Aufstellung (1907), wo ich ihn auf den erstgenannten Fall beschränkte. Die neue Fassung scheint mir deshalb geboten, weil es sich nach unseren heutigen Kenntnissen in den beiden Fällen offenbar um ein Geschehen von prinzipiell gleicher Bedeutung handelt.

[2]) Näheres über diesen Begriff siehe in meiner Publikation von 1907.

trationszustand der chromatischen Substanz der Heterochromosomen, welcher stärker oder schwächer ausgesprochen sein kann als bei den gewöhnlichen Chromosomen. Besonders charakteristisch ist das namentlich in den Spermiocyten und Spermiden beobachtete Auftreten der Heterochromosomen in Form basophiler Nucleolen, während gleichzeitig die gewöhnlichen Chromosomen langgestreckte Fäden darstellen oder noch stärker aufgelöst sind. Während nun das Auffinden als Heteropyknose deutbarer Befunde verbunden mit Heterokinese den Schluss auf Heterochromosomen noch befestigen wird, darf die alleinige Beobachtung basophiler Nucleolen nur mit grosser Vorsicht verwertet werden. Es ist nämlich in letzter Zeit mehrfach festgestellt worden, dass in verschiedenen Stadien der Geschlechtszellenbildung basophile Nucleolen vorkommen können, die mit Heterochromosomen nichts zu tun haben (Gutherz, 1907 [1]) und 1909, Boring, 1907, S. 507). Bei dieser Lage der Dinge werden wir, vor einen basophilen Nucleolus gestellt, nach weiteren in ihm selbst gelegenen Anhaltspunkten suchen, welche die Annahme seiner Chromosomennatur zu stützen vermögen. Solche können sich einmal in gewissen morphologischen Besonderheiten bieten, die für Chromosomen charakteristisch sind [2]) (z. B. Andeutung einer Spirembildung, Ähnlichkeit mit der Gestalt der in Pro- und Metaphase begriffenen gewöhnlichen Chromosomen), sodann in Gestaltveränderungen des Gebildes, die sich als funktionelle deuten lassen, wie solche besonders von Buchner 1909, S. 351ff.) bei Orthopteren als für Heterochromosomen charakteristisch beschrieben wurden.

Beobachtungen.

Bei vielen Evertebraten, z. B. den für Heterochromosomenstudien vorzugsweise verwendeten Insekten, sowie bei den niederen

[1]) Da von mehreren Seiten meine (1907, S. 509) im Anschluss an Henking gegebene Schilderung des basophilen Nucleolus im Oocyten von Pyrrhocoris apterus so aufgefasst wurde, als ob ich denselben mit dem Heterochromosom des Männchens homologisierte, möchte ich betonen, dass es sich nach meiner Überzeugung hier um ein basophiles Gebilde handelt, das man nicht als Heterochromosom zu betrachten berechtigt ist.

[2]) Ebensowenig wie die basophile Färbungsreaktion einen völlig sicheren Schluss auf die chromatische Natur eines Nucleolus zulässt, kann man dieselbe mit Gewissheit aus den morphologischen Eigenschaften eines solchen Gebildes, ohne vollständige Aufklärung seiner Entwicklungsgeschichte, ableiten, da Berghs (1906) an Spirogyra gezeigt hat, dass aus echter Nucleolarsubstanz durchaus chromosomähnliche Gebilde entstehen können.

Vertebraten (Anammia) ist die richtige Seriierung der spermiogenetischen Stadien verhältnismässig leicht zu erreichen, da hier stets zahlreiche Zellen des gleichen oder fast gleichen Stadiums in einer Spermatocyste beisammen liegen und der Inhalt einer Spermatocyste sich in allgemeinen um so weiter entwickelt zeigt, je näher sie dem Vas deferens gelegen ist. Bei den höheren Vertebraten dagegen, wo der Entwicklungsprozess in Form der sogenannten „Samenbildungswelle" in einer Schraubenlinie längs des Hodenkanälchens abläuft, ist die exakte Seriierung der Stadien eine sehr schwierige Aufgabe. Dieselbe ist für den Menschen noch nicht gelöst und liegt auch nicht im Plane unserer Untersuchung. Doch darf man sich, wie ich hervorheben möchte, von einer derartigen Behandlung der menschlichen Spermiogenese auch für unsere Spezialfrage mancherlei wertvolle Aufklärung versprechen.

Wir greifen daher die für unser Problem bemerkenswerten Stadien der Spermiogenese [1]) zur Betrachtung heraus und beginnen mit der für uns besonders wichtigen Frage nach der Chromosomenzahl. Wie schwierig diese zu ermitteln ist, geht aus den starken Widersprüchen in der älteren Literatur [2]) hervor, besonders eklatant aber aus den im gleichen Jahre gemachten Mitteilungen Guyers und Brancas über die Chromosomenzahl der menschlichen Praespermide. Dieselbe soll nach Branca (1910, S. 8) ungefähr das Doppelte wie im Spermiocyten (also ungefähr 24) betragen. Guyer (1910, S. 227) dagegen findet sie halb so gross wie im Spermiocyten (5 bezw. 7), was er auf nochmalige Konjugation der gewöhnlichen Chromosomen zurückführt. Vergleiche ich meine Beobachtungen mit den mir von Insekten her bekannten Verhältnissen, so muss ich konstatieren, dass mir unter zahlreichen Mitosen auch nicht eine Äquatorialplatte zu Gesicht kam, die ich im Falle eines Insektes zur Chromosomenzählung zugelassen hätte: die Chromosomen liegen meist ausserordentlich dicht oder überdecken einander, da sie niemals streng in einer Ebene liegen: bei sehr dichter Lagerung der Chromosomen ist auch eine ungefähre

[1]) Die Stadien der Samenbildung werden im folgenden mit Waldeyer und v. Lenhossék als Spermiogonien, Spermiocyten (früher Spermatocyten I. Ordnung), Praespermiden (früher Spermatocyten II. Ordnung) und Spermiden bezeichnet.

[2]) Eine Zusammenstellung derselben findet sich bei Guyer (1910).

Schätzung ihrer Zahl häufig ausgeschlossen.[1]) Selbst unter den relativ günstigen Bildern, welche die erste Reifungsmitose bietet, fand ich nur zwei Äquatorialplatten, an denen sich eine, jedoch nur annähernde, Zählung vornehmen liess. Die eine derselben ist auf Taf. VI, Fig. 10 abgebildet, Fig. 11 zeigt zwei einzelne Chromosomen der zweiten Platte. In Fig. 10 lassen sich annähernd zwölf Chromosomen zählen; zweifelhaft ist, ob die links oben gelegene Gruppe aus drei oder nur aus zwei Chromosomen besteht. Dasselbe ungefähre Ergebnis hatte die Zählung der Chromosomen der zweiten Äquatorialplatte. Ich kann damit durchaus die Angaben von Duesberg (1906) und Branca (1910) bestätigen. Wenn Guyer mit Bestimmtheit als Chromosomenzahl der ersten Reifungsmitose zwölf angibt, so kann ich ihm hierin nicht folgen. Für die Spermiogonien hebt Guyer die Schwierigkeit der Chromosomenzählung selbst hervor und kann die von ihm mitgeteilte Zahl (22) nur auf wenige Beobachtungen stützen. Über die Chromosomenzahl in den Spermiogonien und Praespermiden bin ich nicht einmal zu einem annähernden Resultat gelangt.

Sind wir somit zurzeit nicht in der Lage, die Chromosomenverhältnisse in der Spermiogenese des Menschen exakt zu verfolgen, so sehen wir uns bei einem Versuch, hier Heterochromosomen nachzuweisen, auf die oben erörterten indirekten Kriterien angewiesen. Während ich in den der Kanälchenwand unmittelbar anliegenden Samenelementen, die grösstenteils wohl als Spermiogonien zu bezeichnen sind, bisher kein auffälliges Gebilde nachweisen konnte,[2]) fesselte im Kern des Spermiocyten ein be-

[1]) Diese ungünstige Beschaffenheit der Äquatorialplatten beruht höchstwahrscheinlich auf einer uns im einzelnen unbekannten Wirkung des Fixationsmittels, könnte also vielleicht durch einen Fortschritt der Technik überwunden werden. Auch wäre ein Erfolg durch grosse Ausdauer beim Suchen brauchbarer Bilder denkbar, da erfahrungsgemäss sich vereinzelte günstigere Mitosen finden lassen.

[2]) Zusatz bei der Korrektur: Montgomery (1911) unterscheidet in einer soeben erschienenen Mitteilung, welche die Entstehung der Sertolischen Zellen des Menschen behandelt, drei Generationen von Spermiogonien und findet in den Kernen der ersten Generation neben echten Nucleolen basophile Körper, die nach Ansicht des Autors möglicher Weise Heterochromosomen darstellen könnten. Auch ich finde in den Spermiogonienkernen mitunter mehrere basophile Körper. Da aber meist nur echte Nucleolen anzutreffen sind, so handelt es sich in den von mir beobachteten Fällen vielleicht um prophasische Stadien der gewöhnlichen Chromosomen.

merkenswerter basophiler Nucleolus mein Interesse,[1]) der sich bei näherer Untersuchung als konstante Erscheinung erwies. Die Unterscheidung dieses Gebildes von den gleichzeitig vorhandenen echten, acidophilen Nucleolen (Plasmosomen) gelingt nicht nur durch eine spezifische Färbungsmethode, als welche mir das Biondische Gemisch (nach Fixation mit Zenkerscher Flüssigkeit) diente,[2]) sondern sehr leicht auch bei Anwendung einer indifferenten Färbung, z. B. des Eisenhämatoxylins nach Heidenhain. Die echten Nucleolen im Spermiocyten des Menschen sind nämlich fast immer von annähernd genau kugeliger (selten ovaler) Gestalt und dadurch von dem unregelmässiger gestalteten basophilen Nucleolus mühelos zu unterscheiden. Ihre Zahl kann in seltneren Fällen drei betragen; die Zweizahl scheint fast so häufig zu sein, wie das Vorkommen nur eines echten Nucleolus. Sind mehrere derselben vorhanden, so scheint stets nur einer von ihnen die beträchtliche Grösse zu besitzen, die man an dem in der Einzahl vorhandenen echten Kernkörperchen regelmässig konstatiert (Taf. VI, Fig. 1 und 2), die anderen Nucleolen pflegen kleiner zu sein und weisen ebenfalls stets rundliche Form auf. Auch bei Anwendung von Eisenhämatoxylin und weitgehender Differenzierung findet sich fast immer eine färberische Verschiedenheit zwischen echtem und basophilem Nucleolus, die aber der Gesetzmässigkeit entbehrt, indem zwar in der Regel der echte Nucleolus länger die Farbe behält als der basophile, aber auch das umgekehrte Verhalten beobachtet werden kann. Mittels der Flemmingschen Dreifarbenmethode kann es unter Umständen ebenfalls gelingen, den basophilen von den echten Nucleolen zu differenzieren: er nimmt dann rote Färbung an, während die letzteren blassviolett erscheinen.

Haben wir so bereits färberische und gröbere Gestaltsunterschiede des uns interessierenden Gebildes von den echten Nucleolen kennen gelernt, so gelingt es bei näherer Betrachtung, auch feinere morphologische Besonderheiten an ihm zu demonstrieren. Hierfür eignet sich vorzüglich die Heidenhainsche Eisenhämatoxylinfärbung bei möglichst weitgetriebener Differenzierung

[1]) Von diesem Körper habe ich bereits eine kurze Schilderung in der Sitzung der Gesellschaft naturforschender Freunde zu Berlin vom 16. Mai 1911 gegeben (Sitz.-Ber. 1911, Nr. 5, S. 255).

[2]) Der uns interessierende Körper nimmt hierbei Methylgrün an, daher bezeichnen wir ihn als basophil. Die echten Nucleolen werden durch Säurefuchsin rot gefärbt.

der Präparate mittels Eisenalauns: auf diese Weise wird der Körper nicht von den Chromatinschleifen verdeckt, was sonst leicht der Fall ist und ein Eindringen in seinen feineren Bau erschwert. Alle Präparate unserer Tafel sind in dieser Weise behandelt; daraus erklärt sich die Blässe der plasmatischen Zellbestandteile und das unscharfe Bild der Chromatinfäden. Der basophile Nucleolus zeigt nunmehr häufig die Struktur eines Doppelstäbchens (Fig. 2), mitunter aber, was besonders interessant ist, diejenige einer Vierergruppe (Fig. 3 und 5). Um die auffallende Ähnlichkeit dieser Strukturen mit den sich in der Prophase entwickelnden Chromosomen zu demonstrieren, habe ich letztere Stadien in den Fig. 8 und 9 abgebildet. Die hier gezeigten Vierergruppen, die ihre Vierergruppennatur nicht immer deutlich enthüllen und dann nur Doppelstäbchen bezw. einfache eckige Körperchen darstellen, erinnern ausserordentlich an die verschiedenen Gestalten des basophilen Nucleolus. Leider habe ich diesen aus Mangel an derartigen Stadien noch nicht bis in frühe Prophasen hinein verfolgen können, in denen er sich von den, wie zu erwarten, kurze Doppelfäden repräsentierenden Chromosomen noch klar differenzieren lassen müsste. Ein derartiger Befund würde die Beteiligung des Gebildes an der Mitose sehr wahrscheinlich machen.

Sehr in die Augen springend ist der Umstand, dass der basophile Körper häufig der Kernperipherie genähert erscheint und dann meist mit dem einen Ende seiner langgestreckten Gestalt der Kernmembran aufsitzt, wie dies unsere Fig. 4—7 gut illustrieren. Mit der peripherischen Lagerung ist öfters eine Gestaltveränderung des Körpers verbunden, die häufiger in einer Verjüngung seines aufsitzenden Endes (Fig. 4), mitunter auch in einer Verbreiterung dieser Partie (Fig. 6) besteht. Derartige Bilder, namentlich im Falle der Verjüngung des peripherischen Endes, erinnern stark an die Beschreibungen, welche Buchner (1909) für das Heterochromosom im Spermiocyten mehrerer Orthopteren gegeben hat und so deutet, dass hier eine Substanzabgabe aus dem Heterochromosom ins Plasma hinein stattfände. Vielleicht sind auch unsere Befunde als funktionelle Veränderungen des basophilen Nucleolus zu deuten.

Über das Verhalten des basophilen Körpers in den verschiedenen Stadien des Spermiocyten kann ich nur wenige Angaben

machen, da eben eine exakte Serilerung derselben nicht im Plane unserer Untersuchung lag. Im Leptotänstadium konnte ich den Körper nicht sicher auffinden, allerdings zeigen sich öfters Verdichtungen des Spirems, die aber in der Mehrzahl auftreten und wenig Charakteristisches haben. Ebensowenig konnte ich ihn im synaptischen Kontraktionsstadium demonstrieren, das man zur Unterscheidung von dem ebenfalls zur Synapsis gerechneten Bukettstadium neuerdings als Synizesis bezeichnet, vielleicht wird er aber hier von dem dichten Fadenknäuel verdeckt. Im Bukettstadium kann der Körper dem Pol der Zelle, der durch das Idiozom bezeichnet wird, ganz genähert liegen (Fig. 6), man trifft ihn aber auch entfernt von dieser Stelle an. Hieraus geht bereits hervor, dass er keine konstante Lagebeziehung zum Idiozom (Annäherung an dasselbe) aufweist, wie Jordan (1911, S. 44) eine solche für den basophilen Nucleolus in sämtlichen Stadien des Spermiocyten von Didelphys virginiana vom Synizesisstadium an beschreibt. Auch in den postsynaptischen Stadien, in welchen man den Körper am leichtesten auffindet, zeigt er keine derartige Lagebeziehung zum Idiozom (vergleiche Fig. 4, wo er fern vom Idiozom liegt). Die vorhin beschriebenen, möglicherweise funktionellen Gestaltsveränderungen des Gebildes finden sich sowohl im Bukettstadium, wie in postsynaptischen Stadien, die Vierergruppenform sah ich bisher nur in postsynaptischen Stadien.

Nachdem ich den basophilen Nucleolus zunächst im Fall A studiert hatte, war es für mich sehr wertvoll, ihn in den Fällen B I–III wiederzufinden und damit sein allgemeines Vorkommen wahrscheinlich zu machen. Er zeigt auch in diesen Fällen die bereits geschilderten Charaktere, wie dies Fig. 5 (Fall B I), Fig. 6 (Fall B II) und Fig. 7 (Fall B III) veranschaulichen. Während Fall B I eine ausgezeichnet lebhafte Spermiogenese aufweist, ist dieselbe in den zur Untersuchung gelangenden Hodenstückchen von Fall B II und B III bedeutend eingeschränkt, wobei sich aber stets zahlreiche Spermiocyten in den verschiedensten Stadien vorfinden. Fall B III weist einige Eigentümlichkeiten auf. Das interstitielle Bindegewebe ist hier sehr stark vermehrt, so dass die Hodenkanälchen wie Inseln erscheinen. Die Spermiocyten (Fig. 7) sind auffallend gross und zeigen gleichfalls sehr grosse echte Nucleolen, die bei der starken Extraktion des Eisenhämatoxylins ganz blass geworden sind. Dadurch tritt

in diesem Falle der basophile Nucleolus mit besonderer Deutlichkeit hervor. Ob diese Veränderungen als pathologisch zu deuten sind, sei dahingestellt.

Mit dem von v. Lenhossék im Spermiocyten der Ratte beschriebenen Intranuclearkörper hat unser basophiler Nucleolus, wie hervorgehoben sei, keinerlei Ähnlichkeit. Dies geht sowohl aus der ursprünglichen Schilderung v. Lenhossécks (1898, S. 251 ff.), sowie aus der erneuten Untersuchung des Gebildes durch Regaud (1910, S. 325) hervor. Auch mit den von letzterem Autor beim gleichen Objekt beschriebenen safranophilen Körpern (S. 324), die Verdickungen der Chromatinfäden darstellen, hat unser Gebilde nichts zu tun. Ich habe auf diesen Punkt besonders geachtet und kann sicher angeben, dass es sich im Falle des Menschen um einen frei im Kernraume befindlichen Körper handelt.

Wir beschliessen die Darstellung unserer Befunde am Menschen mit der Betrachtung zweier Stadien, die für einen Nachweis von Heterochromosomen von besonderer Bedeutung sind, uns aber in dieser Hinsicht keinen Anhaltspunkt bieten. Guyer hat, ebenso wie andere Autoren (Jordan, Stevens) bei Vertebraten, für den Menschen in der ersten Reifungsmitose Heterokinese (und zwar eines aus zwei Komponenten zusammengesetzten Chromatinkörpers) beschrieben,[1]) ferner schildert er einen Dimorphismus der Spermiden als Folgezustand jener Heterokinese (beobachtet an Eisenhämatoxylin-Präparaten). Beide Befunde kann ich nicht bestätigen. Fig. 12—14 zeigen das typische Bild der von der Seite gesehenen Äquatorialplatte der ersten Reifungsmitose: die Chromosomen sind so unregelmässig gelagert (bald liegt eines, bald mehrere dem einen Pol genähert), dass eine Heterokinese, wenn sie tatsächlich vorkäme, sich unserer Feststellung wegen der Unsicherheit der Befunde entziehen müsste. Ich neige aber zu der Auffassung, dass eine Heterokinese überhaupt nicht vorkommt, da sich, wenn auch selten, ziemlich regelmässig ausgebildete Äquatorialplatten finden und diese dann kein einem Pol genähertes Chromosom aufweisen (Fig. 15). Im gleichen Sinne spricht die Betrachtung junger Spermidenstadien (Fig. 16, Schnittdicke 10 μ). Die meisten der zur Untersuchung kommenden

[1]) Nach Guyer liegt hierbei der Heterokinese erfahrende, aus zwei ungleich grossen Chromosomen zusammengesetzte Körper dem einen Spindelpol mehr oder weniger genähert.

Kerne zeigen hier grössere mit Eisenhämatoxylin (bei starker Extraktion) intensiv tingierte Körper. Einen in die Augen fallenden Dimorphismus der Kerne kann ich nicht demonstrieren (die drei Kerne, welche keinen grösseren Körper zeigen, sind nur angeschnitten, enthielten also doch vielleicht einen solchen).[1])

Diskussion der Ergebnisse.

Ein Vergleich unserer Ergebnisse mit denjenigen Guyers zeigt starke Differenzen zwischen beiden. Wenn der amerikanische Autor im Spermiocyten zwei „Chromatinnucleolen", einen grösseren und einen kleineren, (neben gelegentlich vorkommenden anderen kleinen nucleolusartigen Granula) schildert, so spricht alle Wahrscheinlichkeit dafür, dass Guyer, der sich nur der Eisenhämatoxylinmethode bediente, die echten Nucleolen für chromatische angesehen hat, und dass sein grösserer Körper einen echten Nucleolus, der kleinere ebenfalls einen echten Nucleolus oder unseren basophilen Körper darstellt.[2]) Die Angaben Guyers über Heterokinese und Dimorphismus der Spermidenkerne konnten nicht bestätigt werden.

Anderseits konnten wir ein Gebilde im Spermiocyten demonstrieren, dessen Heterochromosomennatur zweifellos diskutabel erscheint, das aber Guyer offenbar entgangen ist. Für die Deutung dieses Körpers als Heterochromosom sprechen seine basophile Färbungsreaktion, seine Ähnlichkeit mit den Chromosomen der Prophase der ersten Reifungsmitose (vor allem die mitunter deut-

[1]) Herr Dr. H. v. Winiwarter (Lüttich), dem ich gelegentlich einer Korrespondenz über meine Befunde beim Menschen berichtete, hatte die Freundlichkeit, mir am 11. Oktober 1911 mitzuteilen, dass er den von uns oben beschriebenen Körper im menschlichen Spermiocyten ebenfalls beobachtet habe. v. Winiwarter, der den Körper als Heterochromosom auffasst, lässt ihn Heterokinese erfahren, so dass er schliesslich nur in die Hälfte der Spermien gelangt. Man wird das Erscheinen der Publikation abwarten müssen, ehe man letztere Angabe beurteilen kann.

[2]) Man könnte an die Möglichkeit denken, diese Differenzen aus einem Rassenunterschied der zur Untersuchung gelangten Individuen zu erklären, da Guyers Material von einem Neger stammte. Ich möchte diese Deutung aber einstweilen für höchst unwahrscheinlich halten, da Guyer keine spezifische Färbung anwandte und seine Figuren (wenigstens für den Spermiocyten und die erste Reifungsmitose) eine Interpretation im Sinne unserer Befunde durchaus zulassen.

liche Vierergruppenform), endlich gewisse Gestaltveränderungen des Gebildes, die sich vielleicht als funktionelle Vorgänge auffassen lassen und an Befunde bei sicher erkannten Heterochromosomen anderer Objekte erinnern. Nach all dem Angeführten darf man meines Erachtens den Körper mit einiger Wahrscheinlichkeit (gewissermaßen heuristisch) in die Kategorie der Heterochromosomen einordnen, ohne sich freilich damit auf sicherem Boden zu bewegen, wie aus unseren methodologischen Vorbemerkungen erhellt.

Gleichwohl sei es gestattet, noch mit einigen Worten darauf einzugehen, welchem Heterochromosomentypus angehörig wir uns den basophilen Körper vorzustellen hätten. Da eine Heterokinese nicht nachzuweisen ist, so werden wir zu der Annahme geführt, dass es sich um ein Chromosomenpaar handele, dessen Komponenten gleich gross sind und im Laufe der Reifungsteilungen gleichmässig auf die Spermiden verteilt werden. Damit stimmt sein mitunter beobachtetes Auftreten in Form der Vierergruppe, die ja von jeher als Prototyp eines bivalenten Chromosoms gilt.

Unsere Annahme findet eine Stütze an Beobachtungen, die an einem anderen, ebenfalls den Vertebraten angehörigen Untersuchungsobjekt, der Hauskatze, vorgenommen wurden. Von Winiwarter und Saintmont (1909, S. 234 ff.) beschreiben hier im Oocytenkern einen Körper, der durch seine in gewissen Stadien auftretende Gestalt (Doppelstäbchen) an unseren basophilen Nucleolus erinnert und den sie als Heterochromosom auffassen. Er zeigt zwar nicht die Lageeigentümlichkeiten und Gestaltveränderungen des beim Menschen beobachteten Gebildes, dürfte aber etwas Verwandtes darstellen. Ich habe nun an Sammlungspräparaten des Berliner anatomisch-biologischen Instituts, die mir freundlichst zur Verfügung gestellt wurden, im Spermiocyten des Katers einen ganz ähnlichen Körper finden können (Textfig. A und B), über dessen etwaige spezifische Färbungsreaktion ich allerdings noch nichts aussagen kann, da die Präparate mit Eisenhämatoxylin gefärbt waren. Übereinstimmend ist auch der Umstand, dass, wie bei der Katze, im Synapsisstadium die Doppelstäbchennatur noch nicht hervortritt (Fig. A). Dieser Befund, der allerdings noch der Bestätigung mittels einer spezifischen Färbungsmethode und der Ergänzung durch Verfolgung des

Körpers in der Spermiogenese bedarf, spricht dafür, dass es sich hier, wenn überhaupt um Chromosomen, um ein Chromosomenpaar handelt, das in beiden Geschlechtern Heteropyknose erfährt.

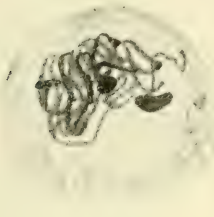


Fig. A.
Spermiocyt des Katers im Synapsis-stadium.

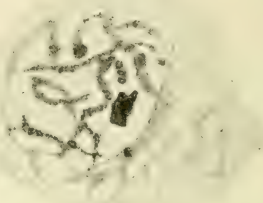


Fig B.
Spermiocyt des Katers in post-synaptischem Stadium.

Zusatz bei der Korrektur: Eine inzwischen vorgenommene Untersuchung des in Carnoyscher Flüssigkeit (abs. Alkohol 6, Chloroform 3, Eisessig 1) fixierten Katerhodens mittels des Biondischen Farbengemisches änderte meine Auffassung des in den Fig. A und B abgebildeten Körpers wesentlich. Er erweist sich nämlich hierbei in beiden Stadien als ausgesprochen acidophil, indem er sich mit Säurefuchsin leuchtend rot färbt, während das Chromatin Methylgrün annimmt: es handelt sich also um einen echten Nucleolus, der durch seine Gestalt ein Heterochromosom in Heteropyknose vortäuscht. Der von v. Winiwarter und Sainmont im Oocyten der Katze beobachtete und als Heterochromosom aufgefasste Körper wird hierdurch in seiner Deutung äusserst zweifelhaft, da die Autoren keine spezifische Färbung vornahmen und mit der Flemmingschen Dreifarbenmethode Blaufärbung des Gebildes erzielten, während nach meinen Erfahrungen nucleolenartige chromatische Körper bei dieser Methode stets rot tingiert werden. Der Fall der Katze muss daher aus jeder Diskussion über Heterochromosomen ausscheiden, solange er nicht mittels einer einwandfreien spezifischen Methode untersucht ist. Unsere Befunde im Spermiocyten des Katers, die einen echten Nucleolus in durchaus chromosomähnlicher Gestalt demonstrieren, mahnen auch zu besonderer Vorsicht bei der Deutung der am Spermiocyten des Menschen gemachten Beobachtungen.

Es sei noch bemerkt, dass die Annahme eines Heterochromosomenpaares mit gleicher Grösse der Komponenten, wie wir es uns beim Menschen vorzustellen hätten, nicht die Möglichkeit einer Beziehung der betreffenden Chromosomen zur Geschlechtsdifferenzierung ausschliesst. E. B. Wilson hatte angegeben, dass derartige Fälle sich durch Übergänge verbunden eng an solche anschliessen können, die im männlichen Geschlecht ein Heterochromosomenpaar mit ungleicher Komponentengrösse

(verbunden mit Dimorphismus der Spermiden) aufweisen. Hat Wilson (1911a) auch neuerdings gezeigt, dass der von ihm zuerst hierfür in Anspruch genommene Fall der Hemipterenart Nezara hilaris doch eine ganz geringe Grössendifferenz der Komponenten des Chromsomenpaares besitzt, so hält er gleichwohl das Vorkommen derartiger Fälle für möglich und nimmt hierbei eine physiologische Differenz zwischen den beiden gleich grossen Komponenten an.

Zusammenfassung.

1. Im Spermiocyten des Menschen findet sich neben einem bis drei echten Nucleolen ein basophiler Nucleolus, der auf Grund seiner feineren Struktur (Doppelstäbchen- bezw. Vierergruppenform) und gewisser als funktionell zu deutender Gestaltveränderungen mit einiger Wahrscheinlichkeit den Heterochromosomen einzuordnen ist.
2. Da weder Heterokinese noch ein Dimorphismus der Spermidenkerne nachzuweisen sind, so ist das hypothetische Heterochromosom als Chromosomenpaar mit gleich grossen Komponenten zu betrachten, wofür auch seine mitunter zu beobachtende Vierergruppenform spricht.
3. Die Angaben Guyers, der für den Menschen typische Geschlechtschromosomen beschreibt, konnten nicht bestätigt werden.

Berlin, 9. Dezember 1911.

Literaturverzeichnis.

Baltzer, F.: Die Chromosomen von Strongylocentrotus lividus und Echinus microtuberculatus. Arch. f. Zellforsch., Bd. 2, 1909.

Berghs, J.: Le noyau et la cinèse chez le Spirogyra. La Cellule, T. 23, 1906.

Boring, A. M.: A study of the spermatogenesis of 22 species of the Membracidae etc., with especial reference to the behavior of the odd chromosome. Journ. of exp. Zool., Vol. IV, 1907.

Branca, A.: Caractères des deux mitoses de maturation chez l'homme. Cpts. rds. Assoc. des Anatom., 12. Réun., Bruxelles 1910.

Buchner, P.: Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren etc. Arch. f. Zellforsch., Bd. 3, 1909.

Duesberg, J.: Sur le nombre des chromosomes chez l'homme. Anat. Anz., Bd. 28, 1906.

Gulick, A.: Über die Geschlechtschromosomen bei einigen Nematoden etc. Arch. f. Zellforsch., Bd. 6, 1911.

Gutherz, S.: Zur Kenntnis der Heterochromosomen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 69, 1907.

Derselbe: Wird die Annahme einer Beziehung zwischen Heterochromosomen und Geschlechtsbestimmung durch das Studium der Gryllus-Oogenese widerlegt? Sitz.-Ber. Ges. naturforsch. Freunde, Berlin 1909, Nr. 9.

Derselbe: Über den gegenwärtigen Stand der Heterochromosomen-Forschung, nebst Bemerkungen zum Problem der Geschlechtsdifferenzierung. Ibid. 1911, Nr. 5.

Guyer, M. F.: The spermatogenesis of the domestic Guinea. Anat. Anz., Bd. 34, 1909.

Derselbe: The spermatogenesis of the domestic chicken. Ibid. 1909.

Derselbe: Accessory chromosomes in man. Biol. Bull., Vol. 19, 1910.

Jordan, H. E.: The spermatogenesis of the Opossum (Didelphys virginiana) with special reference to the accessory chromosome and the chondriosomes. Arch. f. Zellforsch., Bd. 7, 1911.

Lenhossék, M. v.: Untersuchungen über Spermatogenese. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 51, 1898.

Montgomery, Th. H.: Differentiation of the human cells of Sertoli. Biol. Bull., Vol. 21, 1911.

Morrill, Ch. V.: The chromosomes in the oogenesis, fertilization and cleavage of Coreid Hemiptera. Biol. Bull., Vol. 19, 1910.

Regaud, Cl.: Etudes sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogénèse chez les mammifères. Arch. d'Anat. microsc., T. 11, 1910.

Stevens, N. M.: Preliminary note on heterochromosomes in the Guinea-pig. Biol. Bull., Vol. 20, 1911.

Wilson, E. B.: Studies on chromosomes. VII. A review of the chromosomes of Nezara; with some more general considerations. Journ. of Morphol., Vol. 22, 1911 a.

Derselbe: The sex chromosomes. Arch. f. mikr. Anat., Abt. II, Bd. 77, 1911 b.

Winiwarter, H. v. et Sainmont, G.: Nouvelles recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des mammifères (chat), chap. IV. Arch. d. Biol., T. 24, 1909.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel VI.

Sämtliche Figuren sind bei Zeiss' Apochromat 2 mm, Kompens.-Okular 12 in der Höhe des Objekttisches gezeichnet (Vergr. 1500) und stellen Stadien der menschlichen Spermiogenese dar. Wo nichts anderes bemerkt ist, stammen die Präparate von Fall A. Fixation: Flemmings starkes Gemisch. Färbung: Eisenhämatoxylinmethode nach Heidenhain (weitgehende Differenzierung der Präparate).

Fig. 1. Spermiocyt in postsynaptischem Stadium. Echter Nucleolus.

Fig. 2. Dasselbe. Links oben basophiler Nucleolus (Doppelstäbchen), rechts unten echter Nucleolus.

Fig. 3. Dasselbe. Basophiler Nucleolus in Vierergruppenform.

Fig. 4. Dasselbe. Basophiler Nucleolus mit dem verjüngten Ende der Kernmembran aufsitzend. Idiozom entfernt vom basophilen Nucleolus gelegen.

Fig. 5. Dasselbe. Fall B I. Basophiler Nucleolus in Vierergruppenform.

Fig. 6. Spermiocyt im Bukettstadium. Fall B II. Basophiler Nucleolus mit dem verbreiterten Ende der Kernmembran aufsitzend.

Fig. 7 Spermiocyt in postsynaptischem Stadium. Fall B III. Basophiler Nucleolus.

Fig. 8 und 9. Prophase der ersten Reifungsmitose. Chromosomen zum Teil in deutlicher Vierergruppenform.

Fig. 10. Metaphase der ersten Reifungsmitose. Äquatorialplatte vom Spindelpole aus gesehen. Chromosomenzahl annähernd 12.

Fig. 11. Zwei einzelne Chromosomen einer ähnlichen Äquatorialplatte.

Fig. 12—15. Metaphase der ersten Reifungsmitose, in seitlicher Ansicht.

Fig. 16. Gruppe junger Spermiden.

Literarisch-kritische Rundschau.

La polyspermie expérimentale dans l'œuf de Rana fusca.

Par A. Brachet (Brüssel). Mit 2 Textfiguren.

Les travaux féconds d'O. et R. Hertwig[1]), ceux non moins importants de Rückert[2], [3]) et de Boveri[4], [5]), ont fait sortir la polyspermie de la catégorie des curiosités biologiques et l'ont élevée au rang d'une vraie méthode de recherche, permettant l'analyse de la fécondation, des propriétés fondamentales de l'œuf, et des changements qu'y apporte l'entrée d'un spermatozoïde.

O et R. Hertwig ont ouvert la voie en montrant la possibilité de réaliser, chez les Echinodermes, une polyspermie expérimentale et en prouvant ensuite que la polyembryonie n'en est jamais la conséquence. Rückert, chez les Sélaciens, a envisagé dans son ensemble la question de la polyspermie physiologique: il a donné une explication satisfaisante de son inocuité et a dégagé la cause principale du fait qu'il n'y a jamais qu'un seul spermatozoïde qui copule avec le pronucleus femelle. Les recherches de Oppel, de Nicolas, de Harper et d'autres encore, permettent, dans ce qu'il y a d'essentiel, de ranger les Reptiles et les Oiseaux à côté des Sélaciens et de généraliser, par conséquent, les données fournies par ces derniers. Boveri, dans un remarquable travail consacré à la dispermie dans les œufs d'Echinodermes, a reconnu que les hasards de la répartition inégale des chromosomes, à la suite d'une mitose tri- ou tétrapolaire, déterminent le pouvoir évolutif des blastomères dans lesquels ils passent. Un peu plus tard, l'étude de la dispermie chez l'Ascaris amenait le même auteur à conclure que, dans

[1]) O. et R. Hertwig: Über die Befruchtung und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluss äusserer Agentien. Jen. Zeitschr. f. Naturwiss., Bd. XX, 1887.

[2]) J. Rückert: Die erste Entwicklung des Eies der Elasmobranchier. Festschrift für C. von Kupffer, 1899.

[3]) Derselbe: Über Polyspermie. Anat. Anz., Bd. XXXVII, 1910.

[4]) Th. Boveri: Zellenstudien, VI. Die Entwicklung dispermer Seeigeleier. Jena 1907.

[5]) Derselbe: Die Potenzen der Ascaris-Blastomeren bei abgeänderter Furchung. Festschrift für R. Hertwig, 1910.

cet objet, si des chromosomes évoluent dans le sens sexuel ou dans le sens somatique, ils le font sous l'influence des qualités du cytoplasme qui les entoure. Il est à peine besoin de faire remarquer la portée de cette constatation.

Au fur et à mesure que se sont précisées les notions d'ordre descriptif et expérimental concernant les phénomènes morphologiques et physiologiques de la fécondation, les problèmes dont la polyspermie pouvait utilement aborder l'étude, se sont dégagés progressivement.

Les acquisitions faites dans ces dernières années sur la potentialité de l'œuf mûr et de l'œuf fécondé de Rana fusca, sur l'origine et le déterminisme de sa symétrie bilatérale et de ses localisations germinales, sur la destinée réelle ou possible des premiers blastomères issus de sa segmentation, m'ont suggéré l'idée que la réalisation chez Rana d'une polyspermie expérimentale permettrait de pousser plus loin l'analyse des faits, et, peut-être, d'arriver à quelques conclusions nouvelles et fructueuses.

Un des collaborateurs de mon laboratoire, M. Herlant s'est chargé de l'étude spéciale des œufs dispermiques et trispermiques, tandis que je me consacrais moi-même à celle de la polyspermie proprement dite. Les résultats de nos recherches ont été publiés en 1910 et en 1911[1]; j'ai accepté avec empressement la proposition que m'a faite Monsieur le Prof. O. Hertwig, d'en écrire un résumé pour ces Archives.

Tandis que, chez les Urodèles, la polyspermie est constante, mais banale dans ses effets, elle n'est jamais normale chez les Anoures. O. Hertwig, Roux, Morgan, Born ont reconnu qu'elle y est possible, mais toujours dans des conditions anormales, et tous les observateurs s'accordent à reconnaître que la polyspermie physiologique n'y existe pas.

Mais on peut la réaliser expérimentalement chez Rana fusca, et cela par le procedé très simple que Boveri a employé

[1]) A. Brachet: La polyspermie expérimentale comme moyen d'analyse de la fécondation. Arch. f. Entw.-Mech., XXX. Bd., Festband f. W. Roux, 1910.

Derselbe: Recherches sur l'influence de la polyspermie expérimentale dans le développement de l'œuf de Rana fusca. Arch. de Zoologie expérim. et génér., Serie 5, T. VI, Nr. 1, 1910.

M. Herlant: Recherches sur les œufs di- et trispermiques de grenouille. Arch. de biol., T. XXVI, 1911.

pour les œufs d'Oursins. En pratiquant la fécondation artificielle au moyen de sperme très concentré, on peut obtenir tous les degrés de la surfécondation, depuis la pénétration de deux spermatozoïdes, jusqu'à celle de cent et davantage encore.

La segmentation commence dans les œufs polyspermiques en même temps que dans les témoins, et l'allure qu'elle affecte dans les premiers permet de les ranger en cinq catégories:

a) les œufs dispermiques: ils se segmentent en deux et rien ne les distingue des œufs normaux, mais à la seconde mitose, chacun des deux blastomères en donne trois, et l'œuf se trouve ainsi divisé en six cellules, séparées par des plans verticaux (Herlant).

b) Les cas de polyspermie moyenne typique. J'ai proposé de désigner ainsi les œufs plus que dispermiques, et qui se segmentent d'emblée en autant de blastomères qu'il est entré de spermatozoïdes. Le nombre de ceux-ci est de trois à dix environ, mais la limite supérieure n'a rien de fixe et peut souvent s'élever de deux ou trois unités. Dans la trispermie et la tétraspermie, les plans de division sont en général verticaux: les trois ou les quatre blastomères formés peuvent être égaux entre eux, mais ils sont fréquemment de taille différente. Au delà de la pentaspermie, les sillons de divisions s'orientent toujours dans des sens divers: les blastomères sont répartis en une mosaïque occupant l'hémisphère supérieur et présentant les aspects les plus variables. C'est la Barockfurchung de Born.

c) Les cas de polyspermie moyenne atypique. Ici, bien que le nombre des spermatozoïdes fécondants ne dépasse pas dix ou douze, il se forme simultanément moins de blastomères. Par leur aspect extérieur, ces œufs peuvent ne pas se distinguer des précédents.

d) Les cas de polyspermie forte, dans lesquels il se forme toujours moins de blastomères qu'il n'est entré de spermatozoïdes; le nombre de ceux-ci oscille entre quinze et cinquante ou soixante. Ces œufs se reconnaissent facilement: des zones indivises, plus en moins étendues, voisinent avec des régions clivées en segments généralement nombreux et petits.

e) Les cas de polyspermie très forte. Soixante à cent spermatozoïdes et même plus encore, pénètrent en même

temps dans un œuf. Ces œufs ne se segmentent jamais; leur surface se plisse parfois légèrement et prend un aspect chagriné.

Les œufs de toutes ces catégories, sauf ceux de la dernière, ont tous un croissant gris (graues Feld) bien net, ayant exactement les mêmes caractères que dans les témoins et qui y est apparu en même temps. En d'autres termes, dans la dispermie et dans la polyspermie moyenne et même forte, les localisations germinales et la symétrie bilatérale de l'œuf fécondé de grenouille s'établissent dans les délais normaux et sans présenter d'anomalie appréciable. C'est là un fait d'une grande importance, sur lequel je reviendrai plus loin.

Avant d'examiner le mécanisme de la fécondation et de la segmentation aux divers degrés de la polyspermie, je résumerai brièvement le sort réservé aux œufs qui en sont affectés.

Ceux de la cinquième catégorie, qui ne se segmentent jamais, commencent à se nécroser au bout de peu d'heures et meurent rapidement.

Les œufs de polyspermie forte ne donnent jamais d'embryons normaux, et il est rare qu'ils vivent plus de 24 heures; les zones insegmentées prennent rapidement un aspect nécrotique, mais les parties clivées en blastomères peuvent poursuivre le cours de leur évolution. Quand elles sont suffisamment grandes, elles peuvent même subir des différenciations dont l'importance est en rapport avec leur localisation. On obtient ainsi des gastrulas partielles et des fragments d'embryons le plus souvent indéchiffrables, qui tous ne tardent pas à se désagréger.

La polyspermie moyenne atypique donne des résultats analogues mais moins marqués. Il y a toujours une portion plus ou moins grande de l'œuf qui cesse de se segmenter; son siége et son étendue déterminent la destinée du reste: je l'ai vue aboutir à la formation d'hémiembryons.

Restent la polyspermie typique, dans laquelle on peut ranger, au point de vue ou je me place en ce moment, la trispermie et la dispermie dont nous devons l'étude à Herlant.

En ce qui concerne leur évolution ultérieure, les œufs qui en sont atteints peuvent se répartir en deux groupes.

a) Dans l'immense majorité des œufs polyspermiques et dans la grande majorité des œufs trispermiques et même

dispermiques, après une, deux, ou trois segmentations successives qui ont formé une morula, plus ou moins riche en cellules, on voit, en certains points, des blastomères isolés ou groupés à quelques- uns, qui cessent de se diviser. Au bout de quelques heures, ils prennent l'aspect de plages nécrotiques. Le reste poursuit le cours de son évolution, mais, comme dans la polyspermie moyenne atypique, il ne peut donner naissance qu'à toutes les variétés possibles de gastrulas ou d'embryons partiels, et la mort survient à bref délai.

Cette évolution, dont nous examinerons bientôt la cause, est loin d'être sans intérêt. Qu'il s'agisse de dispermie, de trispermie, de polyspermie moyenne typique ou atypique, les arrêts régionaux de la segmentation démontrent, par les conséquences qu'ils entrainent combien est puissante l'influence des localisations germinales et de la symétrie bilatérale, qui apparaissent après la fécondation; ils prouvent en outre que cette influence, aux divers degrés de la polyspermie, est exactement la même que dans la monospermie normale. Les manifestations dynamiques de la fécondation, si nettes dans l'œuf de Rana fusca, ont donc la même potentialité réelle et sont équivalentes, quel que soit le nombre de spermatozoïdes qui ont pénétré dans l'œuf.[1]) L'importance de cette conclusion n'échappera à personne.

b) Le second groupe comporte des œufs qui se caractérisent par un développement beaucoup plus complet que les précédents. Leur nombre est d'autant plus considérable que la polyspermie est moins forte. La segmentation, malgré l'anomalie du point de départ, se poursuit régulièrement: il se forme des blastulas, des gastrulas tout-à-fait normales: puis le blastopore se ferme, toujours sans anomalie appréciable, et un embryon se forme, qui ressemble tout-à-fait aux témoins.

[1]) J'ai proposé, en 1906 (Arch. f. Entwick.-Mech. Bd. XXII) de désigner sous le nom de manifestations dynamiques de la fécondation, la stabilisation des localisations germinales et l'établissement de la symétrie bilatérale. Dans l'œuf de grenouille, il est incontestable qu'elles sont dues à l'action du spermatozoïde. Par potentialité réelle, j'entends la prospektive Bedeutung de Driesch. (Voir à ce sujet mon travail sur la parthénogénèse expérimentale dans l'oeuf de Rana fusca. Arch. de biologie, T. XXVI, 1911.)

Ces cas, très rares dans la polyspermie, atteignent au contraire un taux voisin de 10 % dans la di- et la trispermie.

Néanmoins, tous ces embryons sont voués à la mort. Dans mes expériences, un seul a vécu dix jours; au début il était resté bien conformé et s'accroissait régulièrement; puis sont venues des anomalies fonctionnelles et anatomiques qui ont rapidement augmenté, et un matin, j'ai trouvé le petit têtard mort dans son cristallisoir. La même succession de phénomènes s'est produite pour ceux qui ont survécu moins longtemps. Herlant a observé de nombreux têtards agés d'un ou deux mois; l'un d'entre-eux a même vécu 93 jours. Ces larves étaient belles et vigoureuses pendant un temps plus ou moins long; elles s'accroissaient normalement; puis quelques jours avant la mort, des anomalies diverses apparaissaient, qui progressaient rapidement.

Il résulte de ce qui précède, que les chances d'une longue survie sont d'autant plus grandes que la polyspermie est plus faible, mais que, dans tous les cas, la mort est inévitable.

La portée de tous ces faits ressort de l'examen du mécanisme de la fécondation et de la segmentation polyspermiques. C'est ce qu'il me reste à résumer.

Prenons comme type, un cas de polyspermie moyenne. Dans le sperme très concentré où se trouve l'œuf, plusieurs spermatozoïdes arrivent en même temps au contact de la couche corticale; ils pénétrent, et bientôt leur tête gonfle pour prendre l'aspect d'un noyau spermatique. La pénétration peut se faire en n'importe quel point de l'hémisphère supérieur, et dans la plupart des cas, ces points sont assez éloignés les uns des autres. Chaque noyau spermatique laisse derrière lui la traînée pigmentaire bien connue. Bientôt on voit les centrosomes spermatiques entrer en activité; chacun d'eux irradie le cytoplasme ovulaire autour de lui, se crée une sphère d'action de plus en plus grande dont il occupe toujours le centre, accolé à son noyau qui est comme enchaîné à lui; il s'enfonce ainsi de plus en plus. Cette sphère d'action, à un moment donné, arrive au contact d'une autre ou de plusieurs autres, créées par les spermatozoïdes voisins. Dés lors, elles cessent de s'étendre, ne se pénètrent jamais et restent séparées par d'étroites zones neutres qui s'indiquent sur les coupes, comme des bandes claires. A ce moment, les

zones d'action des divers spermatozoïdes se sont équilibrées, et tout l'hémisphère supérieur de l'œuf est partagé en une série de territoires distincts, qui ne font que se toucher les uns les autres. Chacun de ces territoires est composé d'une masse de cytoplasme irradié, dont tous les rayons convergent vers le centre pour s'unir à un centrosome, accolé lui-même à un noyau spermatique. J'ai donné à ces territoires le nom d'énergides spermatiques: sous l'équateur, dans le vitellus à gros grains, elles deviennent indistinctes.

Herlant, dans son étude des œufs di- et trispermiques, que deux ou trois énergides se partagent, a très minutieusement suivi leur mode de formation et grâce à cette étude, il a pu préciser, dans les termes suivants, la signification qu'on doit donner à l'heure actuelle au terme d'énergide, introduit dans la science par Sachs: c'est une unité morphologique et fonctionnelle, comprenant un noyau, du protoplasme et un centrosome, et dont l'étendue est en raison directe du degré d'activité de celui-ci.

L'existence d'un état d'équilibre entre les énergides spermatiques, le fait qu'elles ne se fusionnent jamais, sont dûs à une propriété fondamentales des centrosomes, que la polyspermie met bien en lumière: on peut l'exprimer en disant: des centrosomes en état d'activité fonctionnelle, répartis dans une masse cytoplasmique commune, se repoussent, en ce sens que chacun d'eux accapare pour son propre compte la portion du cytoplasme qui l'entoure et en occupe le centre.

Rückert avait déja constaté cette répulsion réciproque des centrosomes actifs dans les œufs polyspermiques des Sélaciens.

Elle se voit chez la grenouille: quand deux spermatozoïdes ont pénétré à peu de distance l'un de l'autre, on constate, au moment où leur centrosome entre en activité qu'ils s'écartent, car leurs traînées pigmentaires divergent parfois à angle droit.

Mais dans un œuf polyspermique, tous les spermatozoïdes peuvent ne pas pénétrer exactement en même temps. Les premiers arrivés pourront se créer une énergide plus grande, d'où de fréquentes différences de taille entre les énergides, même dans les œufs dispermiques.

En outre, en se repoussant et en se moulant les unes sur les autres, il arrive souvent qu'une en plusieurs énergides soient refoulées vers le centre et ne touchent pas à la couche corticale

de l'œuf. C'est là l'origine de la polyspermie moyenne atypique: dans les énergides centrales, les conditions nécessaires pour la division cellulaire ne sont pas réalisées, et il ne s'y produira plus tard que des divisions exclusivement nucléaires

Le mécanisme de la formation des énergides spermatiques et les propriétés des centrosomes dont elles sont la conséquence nous expliquent la limitation de la polyspermie et, comme conséquence logique, la raison de la monospermie normale.

L'observation démontre que, en l'absence de toute lésion du cytoplasme, lorsqu'un noyau spermatique s'est créé son énergide, celle-ci ne peut plus être pénétrée par un spermatozoïde nouveau venu. Pour que la polyspermie soit possible, il faut donc que plusieurs spermatozoïdes entrent dans l'œuf en même temps, ou à un très court intervalle: plus tard, toutes les places sont prises. Dans un sperme très dilué, comme celui de la fécondation normale, un spermatozoïde a le temps d'entrer et d'exercer son action, de réagir sur le cytoplasme, avant qu'un second n'arrive. Si ce n'est pas là la cause unique de la monospermie, c'en est sûrement un des facteurs principaux.

Il nous reste à voir ce que devient le pronucleus femelle dans les œufs dispermiques ou moyennement polyspermiques dont nous avons parlé jusqu'ici.

La règle absolument générale est qu'un seul noyau spermatique copule avec le pronucleus femelle. Au moment de la formation des énergides spermatiques, l'expulsion du deuxième globule polaire s'achève. Le noyau de l'œuf reconstitué, siège dans le pigment cortical, au fond d'une petite fossette proche du pôle supérieur. Cette région est tout naturellement englobée dans l'une des énergides, le noyau femelle en gagne alors progressivement le centre pour venir s'accoler au noyau mâle qui s'y trouve déjà.

Il découle de là, que c'est le hasard qui décide qu'un spermatozoïde sera copulant à l'exclusion des autres; il importe peu que son énergide soit grande ou petite: il faut et il suffit qu'elle soit bien placée.

La copulation des pronuclei se fait donc ici comme dans la polyspermie physiologique des Sélaciens (Rückert): le noyau de l'œuf mûr n'est pas le centre d'une énergide, car il lui manque un centrosome, et l'on peut même dire, avec Rückert, que s'il

en avait un et si ce centrosome était en état d'activité fonctionnelle, l'achèvement de la fécondation serait impossible en vertu de la loi de répulsion dont j'ai parlé plus haut.

L'œuf polyspermique contient donc une énergide dont le noyau, qui a la valeur du noyau de segmentation normal, est un amphicaryon (Boveri), et un nombre variable d'énergides qui ne possèdent que des monocaryons mâles. L'œuf dispermique, ainsi que Herlant l'a montré, appartient toujours au Doppelspindeltypus que Boveri a rencontré, mais assez exceptionnellement, chez les Echinodermes.

L'étude de la polyspermie très forte, chez la grenouille, révèle des faits d'un grand intérêt, qui permettent de se rendre complètement compte des causes de l'accolement des pronuclei mâle et femelle dans la fécondation normale. Je les résumerai en quelques mots.

Quand une centaine de spermatozoïdes pénètrent dans un œuf, il arrive constamment que des groupes de deux, trois ou même cinq ou six l'abordent par un point très limité de sa surface et s'engagent dans le cytoplasme à très peu de distance les uns des autres. Après un court trajet, leurs têtes gonflent et prennent l'aspect de noyaux spermatiques. Dès ce moment, on voit ces noyaux converger, se rapprocher de plus en plus et s'accoler en formant des amas mûriformes auxquels on peut donner le nom de polycaryons. Jusqu'à ce moment, les centrosomes amenés par les spermatozoïdes sont invisibles ou en tous cas inactifs. Mais bientôt ils apparaissent au contact de chacun des composants des polycaryons et s'entourent d'un petit aster. Ces noyaux conjugués, hérissés de centrosomes, forment des unités qui repoussent leurs voisines et dans lesquelles apparaissent très vite des mitoses polycentriques complexes, toujours abortives.

Cette observation démontre que des noyaux ayant la valeur de pronuclei, siégeant dans un protoplasme commun, s'attirent les uns les autres en l'absence de centrosome actif.

Si dans la polyspermie moyenne les noyaux spermatiques ne copulent pas entre eux, c'est parce que leurs centrosomes sont entrés en activité et ont commencé à exercer leur action répulsive alors qu'ils étaient encore éloignés les uns des autres et avant qu'ils n'aient pu se rapprocher suffisamment.

Et il en découle encore cette notion d'une portée fondamentale, que, dans la fécondation normale, les pronuclei mâle et femelle copulent en vertu de la loi générale que je viens d'énoncer et nullement parce qu'ils sont de sexe différent. Pour la réalisation de cet acte, il n'est pas nécessaire que les deux noyaux copulants soient dépourvus de centrosome actif: il suffit que ce dernier fasse défaut chez l'un d'entre eux.

On voit par ce qui précède que la polyspermie a apporté de précieux documents pour l'interprétation des phénomènes morphologiques de la fécondation normale; elle jette aussi une vive lumière sur les causes réelles des manifestations dynamiques et permet d'attribuer à l'œuf mûr de Rana fusca, des propriétés que les autres méthodes de recherches n'avaient pu mettre en évidence.

J'ai dit plus haut que les manifestations dynamiques de la fécondation consistent dans la fixation des localisations germinales et dans l'établissement de la symétrie bilatérale; celles-ci se reconnaissent deux heures environ après l'imprégnation par le sperme, par l'apparition du croissant gris. J'ai fait remarquer déjà qu'elles sont exactement semblables dans la polyspermie et dans la monospermie et j'ai montré qu'elles ont, dans les deux cas, les mêmes potentialités.

On admet actuellement que le spermatozoïde joue un rôle essentiel dans la détermination du plan de symétrie bilatérale de l'œuf fécondé de grenouille. Les fécondations localisées de Roux, les constatations statistiques que j'ai faites montrant la coïncidence constante entre le méridien de symétrie et la traînée de pénétration du spermatozoïde, semblent indiquer que ce plan n'est pas préexistant, mais est créé par la fécondation; j'ai de plus, en 1906, fourni la preuve expérimentale que l'œuf mûr mais non fécondé, n'a pas de localisations germinales, ou du moins qu'il est doué d'un pouvoir régulateur parfait qu'il ne perd que lorsque la fécondation est effectuée.

Les enseiguements de la polyspermie expérimentale ajoutent à ces faits des compléments importants; ils sont de deux ordres.

a) Dans les œufs dispermiques, Herlant a établi que le méridien de symétrie bilatérale de l'œuf fécondé passe toujours à mi-distance entre les points de pénétration des deux spermatozoïdes. Il est donc la

résultante de l'action de deux forces tendant au même but. C'est la preuve décisive de l'action directrice du spermatozoïde dans la monospermie.

b) Dans le polyspermie très forte, la question que je traite en ce moment ne se pose pas, et elle se pose mal dans la polyspermie forte; mais dans la polyspermie moyenne, elle se présente sous un aspect nouveau. J'ai eu sous les yeux des centaines d'œufs de cette catégorie: le croissant gris y est aussi beau que dans les témoins; les énergides qui se partagent l'hémisphère supérieur sont en général nettes et à limites précises: les trajets suivis par les divers spermatozoïdes peuvent être reconstitués sans difficulté. Or, il est certain qu'il n'y a pas, dans ces œufs, un spermatozoïde principal qui assumerait la charge du spermatozoïde unique de la fécondation normale: que le méridien de symétrie bilatérale n'est pas la résultante de l'action de deux ou de plusieurs énergides plus grandes que les autres; que, par conséquent si sa fixation est un acte de fécondation, son origine doit être cherchée ailleurs.

D'autre part, étant donné que dans la polyspermie, de multiples spermatozoïdes entrent dans l'œuf à des intervalles de temps extrêmement courts et par les endroits les plus divers de l'hémisphère supérieur de l'œuf, l'idée vient à l'esprit que cette irritation simultanée et étendue amène dans l'œuf une réaction d'ensemble, simultanée aussi dans toutes ses parties. Dans la monospermie, au contraire, la réaction part d'un point bien localisé et s'irradie progressivement à partir de là.

Et puisque, dans les deux cas, un croissant gris, une symétrie bilatérale et des localisations germinales sont les conséquences de la fécondation, une conclusion générale s'impose, qui peut se formuler comme suit: l'œuf de Rana fusca, au moment de la ponte, a une symétrie bilatérale primaire et des localisations germinales préformées, mais dans un état instable, labile; la polyfécondation les fixe et les stabilise telles quelles, tandis qu'elles subissent un remaniement et un déplacement dans l'œuf monospermique et dans l'œuf dispermique. Dès lors, la monospermie se présente comme un important facteur de variation, car le remaniement qu'elle amène ne sera pas mathématiquement iden-

tique dans tous les œufs et par tous les spermatozoïdes. Ses conséquences sur l'évolution future de l'œuf pourront apparaître comme la manifestation de tendances héréditaires spécifiques.

J'attache à tous ces faits une grande importance et une portée générale considérable, car dans tous les œufs, même dans ceux des mammifères, il s'opère des changements dans la stratification des matériaux cytoplasmiques, au moment de la pénétration du spermatozoïde.

Mais ce n'est pas tout. Je veux insister encore sur une autre conséquence, en apparence paradoxale, c'est que la polyspermie modifie moins les propriétés fondamentales que l'œuf a acquises au cours de son développement, que ne le fait la monospermie. Au point de vue des manifestations dynamiques de la fécondation, l'œuf polyspermique de grenouille est, jusqu'à un certain point, parthénogénétique Les agents de parthénogénèse expérimentale, s'ils sont capables de produire ces manifestations, doivent le faire par une action analogue à celle de la pénétration simultanée de plusieurs spermatozoïdes. J'ai montré, dans un travail tout récent, spécialement consacré à cet objet, qu'il en est réellement ainsi.[1])

Il me reste a résumer les détails cytologiques de la segmentation et les causes de la destinée des œufs, des embryons et des larves. Dans la polyspermie très forte ou forte, et dans la polyspermie moyenne atypique, l'absence de segmentation, totale ou localisée, est due à la formation immédiate de mitoses polycentriques qui sont toujours abortives, ou à ce que dans des énergides qui ne touchent pas la surface de l'œuf, il manque le point d'appui nécessaire pour qu'un cloisonnement cellulaire succède aux karyokinèses. Malgré cela, celles-ci se répétant régulièrement, il finit par se produire un chaos de noyaux, de centrosomes et d'asters, qui aboutissent à des mitoses polycentriques, abortives également. La nécrose ne tarde pas à s'installer.

Mais dans les œufs dispermiques, trispermiques (Herlant) et de polyspermie moyenne typique, l'œuf se clive en autant de blastomères qu'il est entré de spermatozoïdes. Au moment où

[1]) A. Brachet: Etudes sur les localisations germinales et leur potentiablité réelle, dans l'œuf parthénogénétique de Rana fusca. Arch. de biol., T. XXVI. 1911.

la segmentation commence, tous les noyaux, l'amphicaryon comme le ou les monocaryons, entrent synchroniquement en mitose (Fig. 1). Les axes de ces mitoses sont determinés par la forme des énergides spermatiques (Loi d'O. Hertwig): dans les œufs dispermiques, ils sont toujours parallèles dans les deux figures.

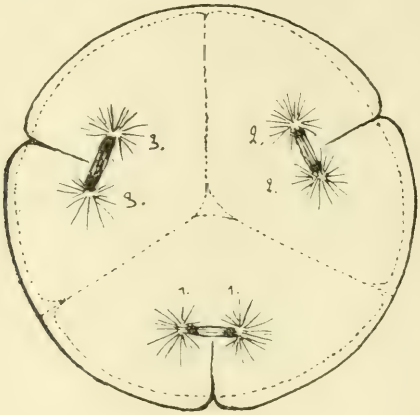


Fig. 1.

Lorsque le cloisonnement cellulaire se produit, chaque blastomère formé contient deux demi-énergides, deux noyaux et deux centrosomes. Mais ceux-ci entrant bientôt dans une phase de repos, les deux demi-énergides ne tardent pas à se confondre. A la première mitose en succède bientôt une seconde et ainsi de suite. Or, il résulte des observations concordantes qu'Herlant et moi avons faites, que pour que la segmentation marche bien, pour que l'embryogénèse puisse suivre son cours normal, il est indispensable qu'il se produise une régulation du nombre des noyaux et des centrosomes, et que les cellules, au cours de la segmentation, deviennent mononucléées et pourvues d'un seul centrosome.

Or cette régulation est essentiellement soumise aux hasards de la forme des cellules binucléées et par conséquent de celles des énergides primaires. Il faut, qu'à partir de la seconde segmentation, cette forme soit telle que les deux fuseaux de division que chaque blastomère contient, viennent se placer de manière à ce qu'un cloisonnement cellulaire régulateur soit possible. Herlant a très soigneusement étudié ces phénomènes

de réglage dans ses œufs dispermiques et trispermiques: il a établi qu'ils sont soumis aux lois ordinaires de la mécanique cellulaire, que les amphicaryons se comportent exactement comme les monocaryons, dont ils ne diffèrent que par leur volume et le nombre de leurs chromosomes, et que la polyspermie n'exerce sur le mode d'action de ces lois, aucune influence spécifique

Dans les blastomères où la régulation numérique des noyaux et des centrosomes est empêchée ou se fait trop lentement, les karyokinèses se succédant sans interruption, produisent rapidement le chaos des noyaux et des centres dont j'ai parlé plus haut, puis des mitoses polycentriques et enfin la nécrose localisée

Il est clair, que plus la polyspermie est forte, moins les conditions d'une régulation nucléaire suffisante sont favorables. Ainsi dans les œufs dispermiques, lors de la seconde division, l'œuf se segmente en six cellules, comme dans le Doppelspindeltypus de Boveri (Fig. 2), et de ces six cellules, quatre déjà

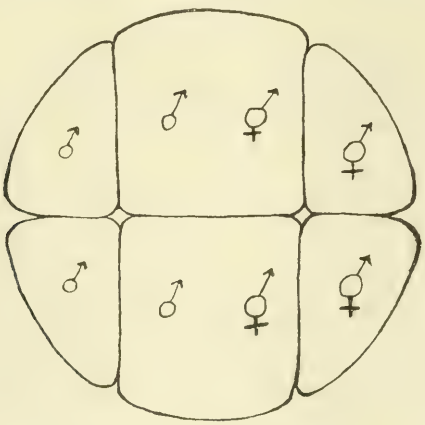


Fig. 2.

sont mononucléées, tandis que deux seulement contiennent encore deux noyaux: et encore ces deux blastomères auront-ils beaucoup de chances de donner, dans la suite, des derivés mononucléés.

C'est donc, en dernière analyse, la simple application, dans des conditions favorables ou défavorables, des lois normales du mécanisme des divisions nucléaires et cellulaires, qui fait qu'un œuf polyspermique subira des arrêts localisés de

la segmentation et avortera, ou bien sera capable de poursuivre normalement le cours de son ontogénèse et de donner naissance à un embryon bien conformé. Car le pouvoir de l'œuf n'est pas altéré, son dynamisme est intact et il n'a besoin pour se développer régulièrement que de se diviser en cellules n'ayant chacune qu'un noyau et un centrosome.

Mais alors pourquoi ces embryons et ces larves sont-ils quand même voués à une mort fatale? Il y a à cela deux causes: l'une est un fait, l'autre est une déduction très plausible que l'on peut tirer des observations.

Le fait est le suivant: dans tout embryon ou toute larve provenant d'un œuf dispermique ou polyspermique, il y a deux espèces de noyaux, différant par leur volume et le nombre de leurs chromosomes. Les dérivés de l'amphicaryon sont des noyaux normaux pour l'espèce, les autres sont des noyaux réduits et le restent. Or les larves polyspermiques permettent ici de saisir sur la vif l'application de la loi de R. Hertwig sur les rapports de masses qui existent entre le protoplasma et le noyau. Les noyaux normaux sont contenus dans de grandes cellules, les noyaux réduits, au contraire, dans de petites cellules. Quand la différenciation des organes et des tissus se fait, ils sont construits sur deux mesures; dans une larve dispermique, par exemple, il y aura dans une moitié du corps de gros neuroblastes et de gros myoblastes, tandis qu'ils seront de taille beaucoup plus réduite dans l'autre moitié; dans un embryon provenant d'un oeuf pentaspermique, $^1/_5$ du corps aura des cellules et des noyaux normaux, tandis que dans les $^4/_5$ restants ils seront réduits.

Une semblable structure est évidemment incompatible avec un fonctionnement harmonieux des organes et explique bien qu'aucune larve ne puisse atteindre l'état adulte.

Mais si elle était l'unique cause de la mort, une larve aurait des chances de survie d'autant plus grandes qu'elle serait plus polyspermique, puisqu'elle serait de plus en plus homogène. Or, c'est précisement l'inverse que l'on constate. Herlant a vu un de ses têtards dispermiques vivre 93 jours, alors que le meilleur produit de mes élevages n'a pas dépassé 10 jours.

L'explication est donc incomplète, et, en l'absence de faits objectifs, nous ne pouvons la compléter que par déduction.

1. Il est possible que dans les régions à monocaryons, il y ait insuffisance quantitative de la chromatine dans les cellules. Les beaux résultats de certaine parthénogénèses expérimentales paraissent plaider contre cette manière de voir.

Mais il ne faut pas perdre de vue que Delage soutient que chez les larves parthénogénétiques d'Oursins, le nombre des chromosomes est redevenu normal: dans mon travail cité plus haut, sur la parthénogénèse de l'œuf de grenouille, j'ai reconnu que les noyaux d'un têtard de 18 jours, contenaient en général beaucoup plus que le nombre réduit de chromosomes.

Or si dans la parthénogénèse, les monocaryons d'origine femelle sont capables de doubler leurs chromosomes, les monocaryons d'origine spermatique n'ont pas ce pouvoir, et cette différence peut être mise en parallèle avec les résultats brillants que peut donner la parthénogénèse, opposés aux résultats déplorables de la polyspermie.

Il y a là matière à des recherches nouvelles dont je ne soupçonnais pas l'intérêt en 1910.

2. Mais il est possible aussi, probable même, que chaque spermatozoïde ait de petites propriétés spécifiques qui le distinguent de ses semblables. Et ces légères différences personnelles produiront d'imperceptibles variations de détails dans la structure et le fonctionnement des zones de l'embryon où se sont répartis les dérivés de leurs noyaux. La larve serait ainsi une mosaïque dont les composants ne se distingueraient que par des détails infimes, invisibles à nos yeux, mais suffisants pour donner à l'ensemble un caractère d'hétérogénéité incompatible avec une bonne organogénèse et une histogénèse bien adaptée.

Il y a là aussi une cause de mort d'autant plus rapide que la polyspermie est plus forte, et si la réalité s'en vérifiait, elle serait du plus haut intérêt.

Il faut noter d'ailleurs que les deux ordres d'actions que je viens d'énumérer ne s'excluent nullement, et peuvent même converger vers le même résultat Les propriétés spécifiques des divers spermatozoïdes rendent très bien compte notamment, du fait que deux embryons provenant d'œufs au même degré de polyspermie, ou deux embryons dispermiques, peuvent ne pas mourir en même temps

Tels sont les résultats principaux de mes recherches et de celles de Herlant. Nous n'avons tiré nos conclusions qu'après une comparaison soigneuse de nos résultats avec les données bibliographiques, mais celles-ci ne pouvaient trouver place dans cet article. Nous nous estimerons heureux si nous avons pu contribuer à montrer que la polyspermie est un moyen d'analyse scientifique aussi précieux que la mérogonie, la parthénogénèse expérimentale et l'isolement ou la destruction des blastomères.

Methoden und Versuche zur Erforschung der Vita propria abgetrennter Gewebs- und Organstückchen von Wirbeltieren.

Besprochen von Oscar Hertwig.

In den letzten Jahren hat die Erforschung der Vita propria von abgetrennten Gewebs- und Organstückchen der Wirbeltiere durch eine Reihe von Untersuchungen erfreuliche Fortschritte gemacht, über welche auch in diesem Archiv ein kurzer übersichtlicher Bericht erstattet werden soll. Die Fortschritte sind durch die Ausbildung und Vervollkommnung von zwei Methoden herbeigeführt worden, 1. durch die Methode der Transplantation, welche schon etwas älteren Datums ist, und 2. durch die neu eingeführte Deckglaskultur.

Was die erste Methode betrifft, so haben namentlich pathologische Anatomen und Chirurgen schon häufiger Experimente darüber angestellt, wie viele Tage und Wochen Epithel-, Periost- oder andere Gewebsstückchen, wenn sie nach ihrer Abtrennung unter geeigneten Bedingungen, vor Fäulnis geschützt, aufbewahrt werden, noch lebend bleiben, obwohl sie der Ernährung durch den Blutkreislauf entbehren. Die Prüfung, ob sie noch am Leben sind, wird bei derartigen Experimenten in der Weise ausgeführt, dass die aufbewahrten Gewebsstückchen wieder einem artgleichen lebenden Tier an geeigneter Stelle nach bestimmter Zeitdauer implantiert werden. Ob die Implantate noch lebend oder abgestorben sind, muss sich bei weiterer Beobachtung dann daran erkennen lassen, dass sie im ersten Fall wachsen und Zellteilungen zeigen, während sie im andern Fall vom Wirtsgewebe als ein toter Fremdkörper unter Ansammlung von Leukozyten resorbiert werden. Trotz zahlreicher Untersuchungen ist die Frage noch wenig geklärt. An der Zuverlässigkeit und Richtigkeit mancher Literaturangaben sind Zweifel gewiss gerechtfertigt. Denn es ist nicht immer leicht zu unterscheiden, ob das wachsende Gewebe vom Transplantat oder vom Wirt herrührt. Dass indessen eine Vita propria an isolierten Gewebsstückchen auch bei warmblütigen Wirbeltieren lange Zeit bestehen kann, haben in einer einwandfreien Weise P. Ehrlich (1906), Michaelis (1905), O. Hertwig und Poll (1907) in ihren Untersuchungen an Mäusekarzinomen festgestellt.

Ehrlich hat Stücke eines Mäusetumor in einem Kältespind bei 8° — 22° unter Null 2 Jahre lang aufbewahrt und als er Teilchen derselben auf 60 Mäuse überimpfte, beobachtet, dass wenigstens in einem Fall sich aus dem Transplantat in 2 Monaten ein Tumor von Kirschgrösse entwickelte, der dem Typus der Ausgangsgeschwulst, einem alveolären Karzinom, vollkommen entsprach. Noch viel günstigere Ergebnisse erhielten Hertwig und Poll bei ihren in grösserem Maßstab planmässig durchgeführten Experimenten.

Die unter strenger Beobachtung der Vorschriften der Asepsis herauspräparierten Mäusetumoren wurden sofort in sterile Gaze eingehüllt und in Petrischalen eingeschlossen, die zuvor durch Hitze sterilisiert worden waren. Um einen Wasserverlust der Gewebe durch Eintrocknung zu vermeiden, wurden die Glaswände mit einigen Tropfen abgekochten Wassers befeuchtet. Die Petrischalen wurden in einem Eisschrank, dessen Temperatur zwischen 0° und + 2° C. schwankte, in drei Versuchen 5, 11 und 18 Tage aufbewahrt.

Im ersten Falle entwickelten sich kleine Stückchen des im Eisschrank aufbewahrten Tumors, als sie auf 20 weisse Mäuse überimpft wurden, bei 13 Tieren nach Ablauf mehrerer Wochen zu entsprechenden Geschwülsten, die in einigen Fällen die riesige Grösse einer Walnuss erreichten. Bei 11 Tage langer Aufbewahrung ergab die Transplantation noch 72,6 Proz. positive Resultate. Von 15 weissen Mäusen wurden 11 mit Karzinom infiziert.

Im dritten Fall wurden Tumorstückchen auf 7 Mäuse transplantiert, von denen 4, einige erst nach längerer Zeit, krebskrank wurden. Somit lieferte auch dieser Versuch noch 56 Proz. erfolgreiche Überimpfungen, trotzdem der Tumor 18 Tage lang ausserhalb des lebenden Körpers aufbewahrt worden war.

In den drei Versuchen liess sich beim Vergleich mit normalen Transplantationen feststellen, dass in der ersten Zeit nach der Überimpfung die angehenden Keime von Geschwülsten, die längere Zeit im Eisschrank aufbewahrt worden waren, sehr langsam wuchsen und erst später ein rascheres Tempo einschlugen, der Art, dass schliesslich auch auf diesem Wege noch „Riesentumoren" entstanden. Durch die Transplantationsmethode hat sich somit der sichere Beweis einer Vita propria von langer Dauer erbringen

lassen. Grössere oder kleinere Zellgruppen bleiben ohne Frage in isolierten Geschwulststückchen, trotzdem sie von Blut und Säften nicht mehr durchströmt werden, am Leben und werden unter günstigen Bedingungen wieder zum Ausgangspunkt von Geschwülsten, in denen sich die charakteristischen Eigenschaften des ursprünglichen Ausgangstumors Punkt für Punkt erhalten finden.

Die zweite Methode, die Deckglaskultur, ist im letzten Jahrzehnt von den amerikanischen Forschern Harrison und Lewis, Carrel und Burrow ausgearbeitet worden. Ihr Ziel war, auch ohne das Hilfsmittel der Transplantation kleine Stückchen von Organen und Geweben kalt- und warmblütiger Wirbeltiere nach ihrer Abtrennung vom Tier nicht nur während längerer Zeit am Leben zu erhalten, sondern auch in der Kultur zu selbständigem Wachstum zu bringen. Harrison wollte bei Vornahme seiner Versuche namentlich das Wachstum und die Differenzierung von kleinen, lebenden Organteilen undifferenzierter Amphibienlarven, in erster Linie aber die Entwicklung der Nervenfasern, an mikroskopischen Präparaten verfolgen. Von Froschlarven, bei denen das Medullarrohr zum Verschluss gekommen war und ebenso wie die Mesodermsegmente noch aus undifferenzierten, embryonalen Zellen zusammengesetzt ist, entnahm er mit sorgfältig sterilisierten Instrumenten unter dem Präpariermikroskop kleine Organstückchen, einen Teil des Hirn- oder Nervenrohrs, oder der Mesodermsegmente, oder ein Nasengrübchen und übertrug es auf ein Deckgläschen in einen Tropfen Lymphe, der unter strenger Einhaltung der Regeln der Asepsis mit einem Kapillarröhrchen aus einem Lymphsack eines erwachsenen, anästhetisch gemachten Frosches entnommen wird. Das Deckgläschen wird dann umgewendet, über die Vertiefung eines hohlgeschliffenen Objektträgers gelegt und durch Überstreichen seiner Ränder mit flüssigem Paraffin befestigt. Da die Lymphe rasch gerinnt, wird das embryonale Gewebsstückchen in seiner Lage im Tropfen festgehalten; zugleich befindet es sich in einem ihm adäquaten, indifferenten Medium und in einer hermetisch abgeschlossenen Luftkammer, in welcher ihm ein kleiner Vorrat von Sauerstoff zur Verfügung steht. Der gute Erfolg des Verfahrens hängt lediglich davon ab, dass keine Bakterien und Pilzsporen bei Anfertigung des Präparates mit in die abgeschlossene Kammer hineingeraten und in der Lymphe einen geeigneten Nährboden

zur Vermehrung finden. Daher müssen nicht nur alle Instrumente, Scheren, Messer, Nadeln, Pipetten, Objektträger, Deckgläschen, im Heissluftsterilisator desinfiziert werden, sondern es muss auch der Frosch, dem man die Lymphe entnimmt, möglichst bakterienrein gemacht werden.

Auf diese Weise konnten in einigen absolut steril gebliebenen Präparaten die Gewebe von jungen Froschembryonen und Larven über 5 Wochen und in vielen Fällen wenigstens 1 bis 2 Wochen am Leben erhalten werden. Dass dies wirklich der Fall ist, lässt sich durch Beobachtung verschiedenartiger Lebenserscheinungen, wie Vermehrung, amöboider Bewegung und Differenzierung einzelner embryonaler Zellen feststellen. Vom Rand des Organstückchens sieht man nicht nur Zellstränge in die Lymphe hineinwachsen, sondern auch einzelne Zellen sich abtrennen und unter amöboider Veränderung ihrer Form durch die Lücken im Fibringerinsel fortwandern. Zellen der Muskelplatte, die von dem Froschembryo vor Eintritt der Differenzierung isoliert wurden, haben noch im höchst möglichen Grad die Fähigkeit zur Differenzierung; es lässt sich in ihnen die Bildung von typisch quergestreiften Muskelfibrillen verfolgen, da man die Untersuchung an den Deckglaspräparaten mit einer homogenen Wasserimmersion (Z. D*) leicht vornehmen kann. An Zellen, die aus dem Nervenrohr ausgewandert sind, kann man die Bildung von Pigment und amöboide Veränderung ihrer Form im Laufe mehrerer Tage beobachten. Die auffälligsten Veränderungen aber bieten embryonale Nervenzellen dadurch dar, dass an ihnen, gewöhnlich einen Tag nach Anfertigung des Präparates, einzelne Ausläufer hervorzusprossen beginnen, die sich Nervenfasern vergleichen lassen. Diese Ausläufer erreichen nicht nur nach einiger Zeit eine erhebliche Länge, sondern verzweigen sich auch mehrfach dichotomisch. An ihren freien Enden sind sie verdickt und mit vielen feinsten Ausstrahlungen versehen, die sich durch amöboide Bewegungen von 5 zu 5 Minuten in ihrer Form und Anordnung verändern.

In einem genau beobachteten Fall, den Harrison als typisch bezeichnet, gestaltete sich der Hergang folgendermassen. 1 Tag nach Isolation eines Stückes vom embryonalen Nervenrohr erschien an seinem Rand ein 90 μ langer, von einer Zelle ausgehender Fortsatz von hyalinem Protoplasma (Fig. 1). 8 Stunden

später waren noch drei weitere Fasern mit verzweigten, ihre Form rasch verändernden Enden unterscheidbar geworden. Ihre durchschnittliche Länge betrug jetzt 220 μ. Nach abermals 12 Stunden hatten einige Nervenfortsätze schon eine Länge von

Fig. 1.

Deckglas-Kultur eines Stückchens vom abgetrennten Medullarrohr eines 3,3 mm langen Embryos von Rana palustris. Nach 25½ Stunden ist eine Nervenfaser mit verdicktem und verzweigtem Ende hervorgewachsen.

480 μ und 11 Stunden später von 600 μ erreicht. Wieder nach einem halben Tag mass die längste Faser, nachdem sie seit der letzten Messung 557 μ zugenommen hat, im ganzen 1,55 mm. Auch an einzelnen Zellen, die bei der Präparation in der Lymphe vollständig isoliert worden waren, konnte die Bildung langer verzweigter Fortsätze in ähnlicher Weise studiert werden (Fig. 2).

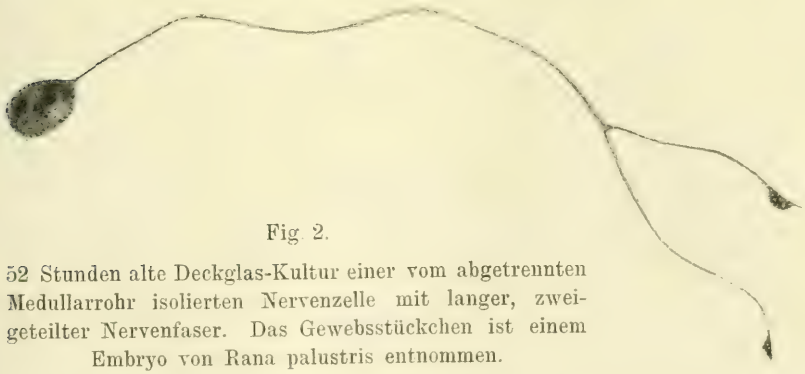


Fig. 2.

52 Stunden alte Deckglas-Kultur einer vom abgetrennten Medullarrohr isolierten Nervenzelle mit langer, zweigeteilter Nervenfaser. Das Gewebsstückchen ist einem Embryo von Rana palustris entnommen.

Die Beobachtungen von Harrison hat Braus durch Herstellung entsprechender Deckglaskulturen im hängenden Lymphtropfen nicht nur bestätigt, sondern auch auf andere embryonale Organe ausgedehnt.

So gelang es ihm, das pulsierende Herz jüngster Froschlarven zu isolieren und in der geschlossenen Glaskammer länger als

eine Woche am Leben zu erhalten der Art, dass es rhythmisch zu schlagen fortfuhr, sich sogar vergrösserte und seine Form durch typische Wachstumsprozesse ein wenig veränderte.

Die Methode von Harrison haben Carrel und Burrow zur Kultur von Organstückchen warmblütiger Wirbeltiere erweitert. Sie brachten dieselben in ein plasmatisches Medium, das von derselben Tierart entnommen wurde, und schlossen sie auf einem hohlgeschliffenen Objektträger in eine kleine Kammer ein. Das Präparat wurde in einen Brutofen von 37° Celsius gebracht, und auch die mikroskopische Untersuchung wurde bei derselben Temperatur vorgenommen. Auf diese Weise liessen sich Stückchen von Bindegewebe, Knorpel, Knochenmark, Haut, Cornea, Schilddrüse, Milz, Nebenniere, Niere, Pancreas, Keimdrüsen etc. über 2 Wochen kultivieren. In den ersten Tagen nach Beginn der Versuche erscheinen am Rand aller Präparate Spindelzellen, welche wohl auf Wucherung des bindegewebigen Stromas zurückzuführen sind. Etwas später erscheint dann ein zweiter Typus von epithelialen Zellen, die in Form von Strängen in die geronnene Lymphe des Nährmediums hineinwachsen und je nach der Art der kultivierten Organe Verschiedenheiten darbieten.

Auch Sarcome und krebsige Geschwülste konnten nicht nur einmal in einer Glaskammer gezüchtet, sondern zu wiederholten Malen von einem Lymphtropfen auf einen zweiten und dritten Nährboden in längeren Zeitintervallen überimpft und in wucherungsfähigem Zustand erhalten werden. Zuweilen war das Wachstum ein ausserordentlich rasches der Art, dass in einem Fall das gewucherte Gewebe das 22fache des ersten Fragmentes ausmachte. Auf Grund seiner Versuche sah sich Carrel zu dem Ausspruch veranlasst, dass die Kultur normaler Zellen keine grösseren Schwierigkeiten als die Kultur mancher Mikroben bereitet.

Durch die von Harrison, Carrel und Burrow eingeführte, neue Methode ist ohne Frage der Nachweis geführt worden, dass unter geeigneten Bedingungen viele Zellen abgetrennter Gewebsstückchen eine, zwei und mehr Wochen am Leben erhalten werden können. Dagegen muss es wohl als zweifelhaft bezeichnet werden, ob dieser Zustand des Überlebens dem normalen entspricht und mit ihm verglichen werden kann.

Denn einmal ist das flüssige Medium in der Kultur, der geronnene Lymphtropfen, doch jedenfalls ein wesentlich anderes als der Saftstrom, in dem sich die Organe im lebenden Körper befinden. Es wäre geradezu wunderbar, wenn die Zellen auf die in ihrer Umgebung und in ihren ganzen Ernährungsverhältnissen eingetretenen grossen Veränderungen nicht in ihrem Lebensprozess entsprechend reagieren sollten. In dieser Beziehung scheint mir doch ein grosser Unterschied zwischen einer Kultur von Organstückchen eines Wirbeltieres, zumal eines Warmblüters, und einer Kultur von Bakterien zu bestehen; denn diese sind nicht nur einzellige und schon dadurch an mehr wechselnde Verhältnisse der Umwelt angepasste Lebewesen, sondern auch ausserdem noch in ihrer Organisation von der allereinfachsten Art.

Ein zweiter Punkt, der bei der Beurteilung der Deckglaskulturen wohl auch nicht ausser acht zu lassen ist, scheint mir der Umstand zu sein, dass bei den abgetrennten Gewebsstückchen alle normalen Nachbarschaftsbeziehungen, durch die im lebenden Organismus ihr Verhalten reguliert wird, ganz in Wegfall gekommen sind. Auch in dieser Beziehung ist von vornherein kaum zu erwarten, dass zum Beispiel die Bildung langer verzweigter Fortsätze an Zellen von Stückchen des abgetrennten Nervenrohrs uns ein Bild von der formativen Tätigkeit derselben Zellen gibt, wenn sie sich im normalen Verband im Organismus befinden würden. Wie sich in Wirklichkeit die Nervenbahnen im Embryo entwickeln, darüber kann uns doch wohl nur das Studium des normalen Bildungsvorganges im Embryo selbst eine richtige Vorstellung geben, so interessant auch die Erscheinung ist, wie sich an einer isolierten embryonalen Nervenzelle ihr Leben im Deckglaspräparat betätigt.

Trotz dieser Einschränkungen haben durch die Einführung der Deckglaskulturen nicht nur unsere experimentellen Methoden eine sehr verdienstliche und erfreuliche Bereicherung erfahren, sondern es ist auch durch sie ein neues Arbeitsgebiet erschlossen worden, das gewiss noch manche lohnende Ausbeute über die Lebenstätigkeit der Zellen unter veränderten Bedingungen liefern wird.

Literaturverzeichnis.

Ehrlich, P.: Experimentelle Karzinomstudien an Mäusen. Arbeiten aus dem Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M., 1906.

Hertwig, Oscar und Poll, H.: Zur Biologie der Mäusetumoren. Abhandl. der Königl. Preuss. Akad. d. Wissensch., 1907.

Michaelis, L.: Experimentelle Untersuchungen über den Krebs der Mäuse. Medizinische Klinik. 1905.

Carrel, Alexis and Burrow: Cultivation of adult tissues and organs outside of the body. Journal of the American medical association, Vol. LV, 1910.

Derselbe: Cultivation of Sarcome outside of the body. Second note. Ebenda, Vol. LV, 1910.

Derselbe: Human Sarcome cultivated outside of the body. Third note. Ebenda, Vol. LV, 1910.

Harrison: Ross Granville. The development of peripheral Nerve fibers in altered suroundings. Arch. f. Entwicklungsmechanik der Organismen. XXX. Bd., 1910.

Derselbe: The outgrowth of the nerve fibre as a mode of protoplasmic movement. Journal of experimental Zoology, Vol. IX.

Braus, H.: Die Entstehung der Nervenbahnen. Gesellsch. deutscher Naturforscher und Ärzte. Verhandlungen 1911.

Derselbe: Demonstration und Erläuterung von Deckglaskulturen lebender Embryonalzellen und Organe. Münchener med. Wochenschrift, 1911.

Burrow: The growth of tissues of the chick embryo outside the animal body, with special reference to the nervous system. Journ. of experim. Zool., Vol. X, 1911.

Über frühzeitige Exstirpation von Extremitäten-Anlagen beim Frosch.

Ein experimenteller Beitrag zur Entwicklungsphysiologie und Morphologie der Wirbeltiere unter besonderer Berücksichtigung des Nervensystems

Mit 18 Figuren im Text und 7 Tafeln. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 99, Nr. 2, S. 189—355, 1911.

Von **Bernhard Dürken**, Göttingen.

Durch funktionsphysiologische Untersuchungen an höheren Wirbeltieren wissen wir, daß der allgemein als Cerebellum oder Kleinhirn bezeichnete Abschnitt des Centralnervensystems als Koordinationsorgan für die Bewegung der Extremitäten eine große Rolle spielt. Geht man nun von der Tatsache aus, daß besonders stark in Anspruch genommenen peripheren Organen besonders gut ausgebildete Nervencentren zu entsprechen pflegen, und setzt man zunächst gleiche Funktion des Cerebellum bei allen Wirbeltieren voraus, so wird man zu der Annahme neigen, daß das Kleinhirn überall da eine bedeutende Ausbildung zeigen wird, wo paarige Extremitäten für die Locomotion (im weitesten Sinne) in Frage kommen. Das ist aber tatsächlich nicht der Fall. Vielmehr ist die Ausbildung des Kleinhirns eine ganz ungleiche: während z. B. die Selachier ein mächtiges Cerebellum besitzen, obwohl die paarigen Extremitäten morphologisch und physiologisch noch verhältnismäßig unbedeutend sind, ist das Kleinhirn der anuren Amphibien, deren Extremitäten in jeder Beziehung in den Vordergrund treten, nur eine kleine Platte. Der Gedanke, daß die Ausbildung des Cerebellum einmal durch die Beziehungen zur locomotorischen Wirbelsäule, das andere Mal zu den Extremitäten bestimmt sei, verliert schon durch diese Tatsache den Boden, vor allem aber dadurch, daß die mit locomotorischer Wirbelsäule begabten Cyclostomen ein nur relativ kleines Cerebellum besitzen.

Es erhebt sich daher die Frage: ist wirklich der gemeinhin als Kleinhirn bezeichnete Abschnitt bei allen Wirbeltieren gleichwertig? Entspricht dem Kleinhirn der Säuger als Koordinationsorgan der Extremitätenbewegung bei den niederen Wirbeltieren ein anderer Hirnabschnitt und welches ist dann dieser Abschnitt?

Um der Lösung dieser Fragen näher zu kommen, war es nötig, bei einem niederen Wirbeltier diejenigen Hirnteile

festzustellen, welche überhaupt zu den Extremitäten in Beziehung stehen. Als Untersuchungsobjekt wurde Rana fusca gewählt.

In der Voraussetzung, daß die Beziehungen der Extremitäten zum Gehirn auch in der Ontogenese, und zwar hier als Entwicklungsbeziehungen, vorhanden sind, wurde zur Feststellung derjenigen Hirnteile, welche irgendwie mit den Extremitäten bezw. ihren Funktionen zusammenhängen, die Methode der embryonalen Exstirpation gewählt, in der zunächst hypothetischen Annahme, daß dem frühzeitigen experimentellen Unterdrücken von Extremitäten korrelative Entwicklungsstörungen im Centralnervensystem entsprechen würden, wodurch die unmittelbare und mittelbare Lokalisation der Gliedmaßen gekennzeichnet würde. Diese Voraussetzungen haben sich bestätigt.

Die jungen Extremitätenanlagen wurden in verschiedenen Combinationen exstirpiert. Von besonderem Erfolg begleitet war die Exstirpation einer Beinanlage, und zwar entweder des linken Hinter- oder des linken Vorderbeins. Die linke Körperseite wurde aus technischen Gründen gewählt.

Die Operationen wurden an drei Materialserien (Serie 0, I, II) ausgeführt, die sich durch ungleiches Alter des Ausgangsmaterials unterschieden, das bei der Serie II am jüngsten war. Die Form der exstirpierten Extremität war bei Serie 0 eine etwa 0,5 mm lange Knospe, bei Serie I und II entsprechend kleiner, bei Serie II nur mit Mühe bei stärkerer Vergrösserung feststellbar.

Ohne auf die Operation und die Aufzucht des Materials weiter einzugehen, seien nun die wichtigsten Ergebnisse der Untersuchung mitgeteilt.

Bei mäßig frühzeitiger Exstirpation nur einer oder mehrerer Gliedmaßenanlagen bei Rana fusca (Serie 0) und Verhinderung einer Regeneration fehlt nur die in der Anlage exstirpierte Extremität; die übrigen Beine sind normal entwickelt; bei sehr frühzeitiger Exstirpation einer Beinanlage (Serien I und II) und der dadurch erzielten völligen Unterdrückung des betreffenden Beines zeigen in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle die drei anderen Extremitäten schwere Mißbildungen in der Form von Entwicklungshemmungen. In einzelnen Fällen kann diese Hemmung bis zur gänzlichen Unterdrückung eines nichtoperierten Beines gesteigert sein.

Nach frühzeitiger Exstirpation (Serie 0) einer Hinterbeinanlage und dem dadurch bedingten Fehlen eines Hinterbeines fehlt stets die zugehörige Beckenhälfte vollständig; auch der zugehörige Querfortsatz des Sacralwirbels ist dann schwächer als normal entwickelt; nach entsprechender Exstirpation des Vorderbeines fehlt die zugehörige Hälfte des Schultergürtels nie vollständig; sie ist stets als ungenügend entwickelte Knorpelspange vorhanden: der zugehörige Querfortsatz ist ebenfalls weniger in Mitleidenschaft gezogen als der entsprechende Fortsatz des Sacralwirbels.

Den verkrüppelten Gliedmaßen der Serien I und II entsprechen mangelhafte Extremitätengürtel und Querfortsätze.

Also zeigen freie Gliedmaßen, Gürtel und zugehöriger Teil des Achsenskeletts einen wechselseitig entsprechenden Ausbildungsgrad, der auf Entwicklungskorrelationen zwischen diesen Teilen beruht.

Nach mäßig frühzeitiger Exstirpation einer Beinanlage (Serie 0) zeigen in günstigen Fällen am Ende der Metamorphose peripheres und spinales Nervensystem, Mittel- und Vorderhirn anormale Asymmetrien; der histologische Zustand dieser Teile ist stets normal. Im Mittelhirn wird die Asymmetrie hervorgerufen durch die Minderung der mit der Exstirpation gleichseitigen Hälfte.

Im Vorderhirn ist die Formreaktion bei Exstirpation eines Hinterbeines und eines Vorderbeines ungleich lokalisiert; im ersteren Falle zeigt sich die Reaktion vorwiegend, jedoch nicht ausschließlich, in der gleichseitigen, im letzteren vorwiegend in der gekreuzten Hemisphäre.

Nach sehr frühzeitiger Exstirpation einer Beinanlage und damit verbundener Mißbildung der drei anderen Beine (Serien I und II) bleibt im Nervensystem die Entwicklungshemmung nicht beschränkt auf die Nerven und Centren des exstirpierten Beines, sondern greift über auf die nervösen Centren der nicht operierten Extremitäten. Hand in Hand damit geht die unvollkommene Entwicklung der nicht operierten Gliedmaßen und ihrer Gürtel.

Aus den gesamten, experimentell erzielten Mißbildungen geht hervor, dass einerseits das periphere und centrale Nervensystem durch die Entwicklung peripherer Organe oder durch deren primäre Unterdrückung in ihrer eigenen Formgestaltung

beeinflußt werden, daß andererseits aber die normale Formbildung der nervösen Centren Voraussetzung ist für eine normale Entwicklung der Extremitäten. In diesen wechselseitigen Beziehungen treten echte Entwicklungskorrelationen zutage.

Die neurogenen Mißbildungen der Gliedmaßen zeigen eine Beeinflussung der Embryonalentwicklung durch das Nervensystem, die aber nicht auf einer diesem spezifischen morphogenetischen Funktion beruht, sondern auf Entwicklungskorrelationen, wie vor allem aus der umgekehrten Beeinflussung der Gehirnentwicklung durch die Beinentwicklung hervorgeht.

Ist infolge von frühzeitiger Exstirpation einer Beinanlage zunächst der zugehörige Teil des Centralnervensystems geschädigt worden, so fällt eine etwaige später einsetzende Regeneration des peripheren Organs mangelhaft aus.

Durch die Entwicklungshemmungen ist die Lokalisation der paarigen Extremitäten des Frosches im Mittel- und Großhirn erwiesen. Am heftigsten reagiert hat das Mittelhirn, und man geht wohl nicht fehl in der Annahme, daß dort besonders lebhafte Beziehungen zur Extremitätenbewegung vorliegen.

Das Kleinhirn steht zu den Extremitäten in keiner Beziehung. Daher wird die Frage nach der Gleichwertigkeit des jetzt allgemein als „Kleinhirn" bezeichneten Hirnabschnitts bei allen Wirbeltieren und im Anschlusse daran die Frage nach der Homologie der einzelnen Hirnteile überhaupt in den Vordergrund gestellt.

Aus dem anatomisch-biologischen Institut der Universität Berlin.

Die Spermiogenese beim Pferde. I.

Von

Dr. S. Kirillow

Prosektor am anatomischen Institut der Tierärztlichen Hochschule in Kasan.

Hierzu Tafel VII und 1 Textfigur.

Das Studium der Spermiogenese beansprucht in neuerer Zeit ein erhöhtes biologisches Interesse. Für eine grosse Anzahl rein morphologischer Fragen ist die Samenbildung der Tiere eine Fundgrube neuer Erkenntnis geworden. Vorzüglich aber fordert die moderne cytologische Richtung der Erblichkeitsforschung gebieterisch eine recht vollständige und systematische Durcharbeitung der Keimzellenbildung möglichst zahlreicher Formen.

So umfangreich in Anbetracht des grossen Interesses und der Bedeutung derartiger Untersuchungen auch die entsprechende Literatur ist, so sind doch mit Vorliebe die günstigen und bequemeren Studienobjekte, vor allem niedere Tiere, von den Forschern berücksichtigt worden. Spärlich sind hingegen noch die Kenntnisse auf dem Gebiete der in mannigfacher Hinsicht recht ungünstigen Verhältnisse bei den Vögeln und Säugetieren. So scheint hier die Untersuchung neuer Materialien, vor allem aus den bisher noch nicht studierten Ordnungen wünschenswert.

Es nimmt fast Wunder, dass ein so wichtiges und interessantes Säugetier wie das Pferd noch keine zusammenhängende und gründliche Bearbeitung seiner Samenbildung gefunden hat. In der Tat aber beschränkt sich unsere Kenntnis von der Spermiogenese der Säugetiere im wesentlichen auf die Ergebnisse an Ratte, Maus, Meerschwein, Katze, Stier und Mensch.

Eine Beschreibung vom Aufbau des samenbildenden Epithels beim Pferde haben nur die beiden französischen Tierärzte Mosselman und Rubay (1902) geliefert. Weder aus ihrer Darstellung, noch aus den beigegebenen Abbildungen kann man sich ein Bild von dem tatsächlichen Hergang der Samenbildung machen. Ist sie doch auch nur bestimmt, für die Beschreibung pathologischer Veränderungen im Pferdehoden als ungefähre Grund-

lage zu dienen. Sie kann daher für die Zwecke der folgenden Darstellung ausser Betracht bleiben. Bei weitem am wichtigsten und grundlegendsten ist die klassische Arbeit von Regaud (1901, 1910) über die Spermiogenese bei der Ratte, die in allen wichtigen Punkten zum Vergleich der Befunde herangezogen wurde.

Die vorliegende Untersuchung enthält als ersten Teil einer grösseren Studienreihe über die Keimzellenbildung des Pferdes die gröberen morphologischen Ablaufserscheinungen der Samenbildung von Equus caballus.

An erster Stelle erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Prof. Hertwig meinen innigsten Dank für die mir erwiesene Förderung und das rege Interesse für meine Arbeiten auszusprechen. Ebenso danke ich auch Herrn Prof. Poll, ohne dessen Hilfe es mir nicht möglich gewesen wäre, ein so grosses Material zu sammeln und zu bearbeiten.

Material und Methoden.

Als Material für meine Arbeit dienten dank des liebenswürdigen Entgegenkommens des Herrn Prof. Eberlein, dem ich hier meinen verbindlichsten Dank aussprechen möchte, die Testikel der Pferde, die in der chirurgischen Klinik der Tierärztlichen Hochschule zu Berlin kastriert wurden. Das Material konnte in vollkommen frischem Zustande fixiert werden. Ein weiterer Teil des Materials stammt aus der Tierärztlichen Hochschule zu Kasan. Herr Medwjedew fixierte auf meinen Wunsch und nach meinen Angaben die Testikel der von ihm kastrierten Hengste und schickte mir die Präparate in 85 proz. Alkohol zu, wofür ich mich auch ihm zum Danke verpflichtet fühle. Aus dem frischen Hodengewebe wurden dünne Scheiben herausgeschnitten und zwar längs der langen Achse des Testikels. Diese Scheiben ergaben wieder der Länge und der Breite nach zerlegt sehr handliche, etwa würfelförmige Präparate von 3—5 qmm Gewebeinhalt. Zur Fixierung dienten im wesentlichen die Gemische von Flemming, Tellyesznitzki und Zenker, zuweilen auch die von Carnoy und Bouin. Näheres ergibt eine genaue Tabelle des verarbeiteten Materials mit Angabe der Protokollnummern, des Alters, der Abstammung der Pferde und der Konservierungsflüssigkeiten.

Nach der Fixation wurden die Stücke in fliessendem Wasser für die Dauer von 24 Stunden ausgewaschen, dann in

steigendem Alkohol entwässert und durch eine Mischung von Chloroform und Alkohol absolutus und reinem Chloroform in Paraffin eingebettet.

Nach solcher Behandlung wurden die Stücke in Serienschnitte von 5 μ Dicke zerlegt, auf den Objektträger aufgeklebt und gefärbt.

Die Präparate, welche mit der Flemmingschen Flüssigkeit fixiert waren, wurden entweder nach der Flemmingschen dreifachen Färbungsmethode behandelt (Safranin, Gentiana-Violett und Orange) in der Modifikation, wie sie im Strasburgerschen Laboratorium in Bonn geübt wird, oder sie wurden der Färbung mit Safranin-Lichtgrün oder endlich nach vorausgegangener Bleichung mittels Wasserstoffsuperoxyds nach dem Verfahren Heidenhains der Eisenalaun-Hämatoxylin-Färbung mit Nachfärbung durch Eosin, Lichtgrün, Orange unterworfen. Der Fixation im Gemisch von Tellyesznitzki liess ich die Färbung entweder nach Heidenhain oder mit dem Hämalaun und Safranin folgen, wie sie Regaud (1909—1910) in seiner ausgezeichneten Arbeit über den Hoden der Ratte angegeben und empfohlen hat. Diese Färbungsmethode lieferte sehr gute Resultate, da sie in bestimmten Stadien eine sehr gute Differenzierung des Kerninhaltes, teils in hämateinophile, bald in safranophile Farbtöne liefert und die Durcharbeitung und das Aufsuchen bestimmter Spermiogenesestadien überaus erleichtert. Daneben kamen ebenso, wie für die Zenker-Präparate, auf deren gute Jodierung streng geachtet wurde, die gewöhnlichen Färbungen mit Hämalaun-Eosin etc. zur Anwendung. Für die zuletzt genannte Fixation diente vor allem anderen Heidenhains Methode mit oder ohne Nachfärbung. Hier leistete zuweilen auch Bordeauxrot gute Dienste. Für das Zenker-Material wurde überdies noch die Färbung mit der Pikro-Indigo-Carmin-Magentarot-Methode angewandt. Jede von diesen Fixations- und Färbungsmethoden hat ihre Vorteile. Eine brauchbare und möglichst vielseitige Anschauung liefert indessen lediglich der Vergleich und die Kombination der von ihnen dargestellten Einzelheiten.

Wie aus der beigefügten Material-Tabelle ersichtlich ist, standen mir neben normalen auch cryptorchide Testikel zur Verfügung, die aber vorläufig nur vergleichsweise studiert wurden. Von einer genaueren histiologischen Beschreibung sehe ich gegen-

Tabelle des Materials.

Lfd Nr.	Nr. des Protok.	Ort	Alter	Rasse	Konservierung	Zeit	Bemerkungen
1	368	Berlin	12		F, Z	8. II.	
2	368	„	2½		F	8. II.	
3	468	„	10	Kutschpferd	F, Z, B, T, C	21. II.	
4	475	„	10	Oldenburg	T, Z, F, B	9. III.	
5	476	„	3	Land.+Belg.	T, Z, F, B	9. III.	Cryptorchid rechts (b)
6	477	„	3	Preussisch	T, Z, F	11. III.	
7	478	„	5	Mecklenburg	T, F, B	13. III.	
8	479	„	5	„	T, F, B	13. III.	
9	488	„	1½	Han.+Vollbl.	F, T, Z, B	17. III.	Cryptorchid rechts (b)
10	489	„	3	Traber, leicht	F, T, Z	25. III.	Der linke Testikel ist klein u. wiegt 80,0 gr, rechte wiegt 180,0 gr
11	505	„	5	Engl. vollbl.	F, T, Z	6. IV.	
12	506	Kasan	8	Land.+Arden	T	8. IV.	Nicht gut fixiert
13	507	„	12	Landpferd	T	8. IV.	„ „ „
14	518	Berlin	2	„	F, T, Z	13. IV.	Cryptorchid rechts (b)
15	523	Kasan	4	„	T	20. IV.	
16	524	„	5	„	T	20. IV.	
17	525	„	5	„	T	20. IV	
18	538	Berlin	9	Unbekannt	F, T, Z	29. IV.	
19	539	„	9	„	F, T, Z	29. IV.	Cryptorchid links (b)
20	540	„	1	„	F, T, Z		Cryptorchid rechts (b)
21	541	„	2	„	F, T, Z	29. IV.	Der linke Testikel ist kleiner
22	542	„	1	Landpferd	T, Z	2. V.	
23	543	„	1	„	T, Z	2. V.	
24	544	Kasan	5	„	T	3. V.	Nicht gut fixiert
25	545	„	5	„	T	3. V.	
26	546	„	6	„	T	3. V.	
27	547	„	6	„	T	3. V.	
28	548	„	7	„	T	3. V.	
29	549	„	7	„	T	3. V.	
30	550	„	8	„	T	3. V.	
31	551	„	12	„	T	3. V.	
32	552	„	12	„	T	3. V.	
33	553	Berlin	2	„	F, T, Z	6. V.	
34	569	„	7	Belgier	F, T, Z	9. V.	Nicht gut fixiert
35	573	„	3	Littauer	T, Z	13. V.	Sehr kleine Testikel
36	579	„	1¼	Unbekannt	T, Z	17. V.	
37	580	„		„	T, Z	17. V.	Reste von Testikel
38	585	„	1½	Preussisch	T, Z, C	23. V.	

Lfd. Nr.	Nr. des Protok.	Ort	Alter	Rasse	Konservierung	Zeit	Bemerkungen
39	594	Berlin			T, Z. Sublim.-Eisessig	25. V.	Der rechte Testikel ist etwas kleiner
40	595	„	1	Halbblütig	F, T, Z	30. V.	
41	604	„	16		F, T, Z	17. VI.	
42	605	„	6		F, T, Z	17. VI.	
43	606	„	3		F, T, Z	17. VI.	Cryptorchid
44	607	„	10		Formalin	17. VI.	„
45	622	„			F, T, Z	27. VI.	
46	626	„	2		F, Z, B	29. VI.	

C = Carnoy; B = Bouin; F = Flemming; T = Tellyesznitzky; Z = Zenker.

wärtig ab und verspare sie in Anbetracht des grossen Interesses, das sie darbieten, für eine spätere besondere Arbeit. Ausserdem ist aus eben derselben Tabelle ersichtlich, dass das Material von Pferden verschiedener Abstammung und verschiedenen Alters herrührte. Die überaus wichtigen Strukturunterschiede, die Abstammung und Alter bedingen, werden ebenfalls Gegenstände meiner künftigen Studien bilden. Gegenwärtig betrachten wir nur die Spermiogenese des Pferdes im allgemeinen oder die histiologische Topographie, um eine Grundlage zu gewinnen, die als Vergleichsmaterial und Ausgangspunkt dienen kann, und die bisher in der Literatur völlig fehlte.

Der Aufbau der Tubuli contorti des Pferdes.

Die Tubuli contorti des Pferdehodens sind, wie bei allen Säugetieren, aussen von einer besonders strukturierten Eigenmembran umgeben, auf der in mehreren Schichten das Samenbildungsepithel aufgelagert ist. Dieses Epithel füllt fast das ganze Lumen des Kanals aus und lässt nur je nach dem Entwicklungsstadium der Samenbildung einen grösseren oder kleineren Hohlraum frei. In diesem Lumen befindet sich eine gewisse Menge von Flüssigkeit, in der Spermien schwimmen können. Die Zellen des Samenepithels, die in der sogenannten generativen Schicht nahe der Membran des Röhrchens entstehen, machen in der von anderen Tieren, insbesondere den höheren Wirbeltieren, bekannten Weise eine bestimmte Metamorphose durch, in deren Ablaufe sie in reife Spermien umgewandelt werden, die zur

Ausstossung bestimmt sind. Die in diesem Entwicklungsgange auftretenden Zellenformen und die im Samenepithel vorhandenen Stützgebilde, die Sertoli-Elemente, sollen zuerst cytologisch charakterisiert und dann behufs Festlegung der Stadienbilder topographisch studiert werden. Für die Orientierung über die angewandte Nomenklatur und die allgemeine Folge der Erscheinungen diene das beistehende Schema der Samenbildung. (Nach Poll 1911.)

Schema des Spermiogenese.

Fig. 1.

Sertoli-Elemente.

Von dem Vorhandensein eigentlicher Sertolischer Zellen kann im Pferdehoden ebensowenig wie in den Keimdrüsen anderer Säugetiere (Regaud) genau genommen die Rede sein; denn es gelingt nicht, den Plasmaleib dieser Elemente scharf und deutlich abzugrenzen. Was man erblickt, sind lediglich sehr charakteristische, in eine Protoplasmamasse eingeschlossene Kerne. Dieses Plasma hängt im ganzen Röhrchen nach der Art eines etwa hohlzylindrischen Wandbelages zusammen. Es bildet die Grundlage des Sertoli-Syncytiums. Bei jungen Tieren und bei vielen Cryptorchiden ist dieser innere Plasmamantel so dick, dass er fast das ganze Lumen des Röhrchens ausfüllt. Nur inmitten der Lichtung ist das Plasma durch grosse Vacuolen gelockert. Auf die Frage der Existenz von Zellabgrenzungen wird in anderem Zusammenhange zurückzukommen sein.

Beim erwachsenen normalen Hengste betten sich in dieses Syncytium alle Generationen des Samenbildungsepithels ein. Sie liegen indes in manchen Stadien so dicht beieinander, dass zwischen ihnen das Syncytium kaum erkennbar ist. In anderen Stadien hingegen liegen die Zellen lockerer und man vermag dann zwischen diesen Elementen Balken und Stränge des beim Pferde oft im fixierten Präparate deutlich faserigen Syncytiums wahrzunehmen. Im ganzen sind diese Syncytiumteile an Masse nicht beträchtlich, sie stehen bei weitem hinter der oft viel kompakteren und deutlicher derbfaserigen Plasmamasse zurück, die in der Nähe der Sertolikerne in vielen Stadien wie zylindrische oder konische Pfeiler aus dem Randplasmamantel sich nach der Lichtung des Röhrchens bis zu recht verschiedener Höhe hin erheben. Diese Plasmapfeiler sondern sich beim Pferde oft so deutlich durch Aussehen und Leistung von dem vollständig kontinuierlichen Wandsyncytium ab, dass hierfür die Bezeichnung Sertolizelle sich noch am ehesten aufdrängt. Es muss nun betont werden, dass die derberen Strukturen in einigem Zusammenhange mit dem Wechsel der funktionellen Aufgabe der Sertoli-Elemente entstehen und vergehen. Daher die Sertolizelle als solche kaum als beständiger und integrierender Bestandteil des tätigen Samenbildungsepithels beim Pferde betrachtet werden kann. Es stimmen diese Tatsachen und Deutungen von Regaud (1909) über den syncytialen Charakter der Sertoli-Elemente bei der Ratte besser

zu den am Pferdehoden erhobenen Befunden, als die Vorstellung von Schönfeld (1902), der den syncytialen Zusammenhang dieser Gebilde für den Stiertestikel scharf bestreitet.

Die Kerne der Sertolischen Plasmamasse besitzen im allgemeinen blasenartige, sackähnliche Formen. Sie sind verhältnismässig recht gross, von 6 μ bis 10 μ Durchmesser bis zu 18 μ grösstem Durchmesser (Fig. 8, 9, 10). Ihre Gestalten wechseln sehr stark: sie sind kugelig, ovoid, dreiseitig, prismatisch etc. Sichtlich hängen diese Formvariationen zum Teil von der Raumökonomie im Epithel ab. Sie liegen entweder in der generativen Basalschichte des Epithels an der Membran des Samenkanals selbst mit ihrem grössten Diameter etwa parallel oder senkrecht zur Röhrchenwand aufgestellt oder aber, sie verlassen diese Schichte und lagern sich in einem mehr lumenwärts gelegenen Niveau zwischen den Spermiocyten, wie dies auf Fig. 2, 8, 9, 11, 12 sichtbar ist. Während der normalen Spermiogenese liegen sie nahezu in gleichen Abständen voneinander im Plasma verteilt, sowohl in der Längsrichtung, als auch in der Transversalrichtung des Tubulus. In den Zwischenräumen liegen Spermiogonien und Spermiocyten. Durch ihre Klarheit, ihre Lage und besonders durch den Besitz eines sehr charakteristischen grossen safranophilen runden Nucleolus mit glatten Rändern, der sich mit Eisenhämatoxylin intensiv schwärzt, unterscheiden sie sich leicht von den anderen Zellen, die den Samenkanal ausfüllen. Sie sind umschlossen von einer Kernmembran, die in manchen Stadien eingedrückt und gerunzelt ist, ja sogar sehr tiefe Falten aufweist. Diese Falten schneiden zuweilen so tief ein, dass man beim Studium der Schnitte den Eindruck bekommt, als ob man es hier mit einer amitotischen Teilung zu tun hätte. In solchen Fällen fehlt in einer der Hälften des Kerns der Nucleolus und in dem umgebenden Protoplasma ist kein Anzeichen einer Einschnürung oder andersartigen Abgrenzung von Plasmabezirken zu erkennen. Das Innere des Kernes verdankt sein helles und klares Aussehen einer recht beträchtlichen Flüssigkeitsmenge, die von zarten, oft ganz feinkörnigen, incrustierten Lininnetzen durchzogen wird. In diesem Netze hängt an einem Punkte das grosse Kernkörperchen. Mitosen, andere Vermehrungsvorgänge, degenerative Erscheinungen der Sertolikerne scheinen dem Pferde zu fehlen. Jedenfalls spielen sie sicherlich keine beträchtliche Rolle. Centriolen haben sich nicht

mit Sicherheit erkennen lassen. Sertoliplasma und Sertolikerne weichen beim Hengste in keiner irgendwie beträchtlichen Weise von dem Verhalten ab, das sie bei anderen Säugetieren zeigen. Auf die verschiedene Deutung der Zusammenhänge der Elemente ist oben kurz hingewiesen worden.

Topographische Histiologie der Samenbildung beim Pferde.

Das Studium ein und desselben Samenkanälchens entweder nach Ebners Methode am isolierten Tubulus oder an Reihenschnitten nach Regaud lehrt, dass vom blinden Ende des Röhrchens bis zum Rete testis hin der Samenbildungsprozess in Form einer Wellenbewegung abläuft (v. Ebner, 1871). Es wiederholen sich die gleichen Bilder in bestimmten Zwischenräumen in einer gewissen Folgeweise, während auf den Querschnitten des Röhrchens im allgemeinen mit recht scharfen Grenzen sehr verschiedene Phasen oder Stadien des Samenbildungsprozesses hart aneinandergrenzen. Regaud (1901—1910) gebührt das zweite grosse Verdienst in der Förderung dieser Frage. Er erkannte beim Studium der Samenbildung der Ratte, dass diese Wellen nicht geradlinig längs der Kanälchenachse ablaufen, vielmehr gelang es ihm zu zeigen, dass sie in einer Schraubenlinie fortschreiten.

Die unerlässliche Voraussetzung jedes genauen Studiums der Samenentwicklungsvorgänge bildet die Feststellung, ob und in welcher Art diese Schraubenwelle bei dem gewählten Untersuchungsobjekte ausgestaltet ist. Ohne solche genaue und einwandfreie Festsetzungen bleibt jeder Versuch einer Seriierung der cytologischen Prozesse im Säugetierhoden, besonders der theoretisch so bedeutsamen Wandlungen und Schicksale der Spermiocyten ein haltloses Gebäude ohne sichere Fundamente. Aber auch schon an und für sich bietet der Vergleich einer möglichst grossen Anzahl von Säugetieren nach dem Gesichtspunkte dieser histiologischen Topographie bemerkenswertes Interesse für die Beurteilung dessen, was an diesen Vorgängen von allgemein biologischer Bedeutung, von phylogenetischer Wichtigkeit, vom Standpunkte einer Verwandtschaftslehre, von Nutzen für die Variabilitätsforschung etwa im Lichte der Anpassungserscheinungen sein möge.

Auch beim Pferde verläuft die Spermiogenese in einem solchen Spiralband im Hodenröhrchen. Die

ideale Darstellungsform dieser Samenbildungsspirale würde die geometrische Konstruktion einer Raumkurve sein, die alle Elemente dieser Linie projiziert auf die Wand eines als geraden Zylinders vorgestellten Hodenkanälchens ohne weiteres abzulesen gestatten würde. In Anbetracht der Schwierigkeiten, mit genügender Sicherheit hinreichend viele Messungen zu sammeln und für Equus caballus diese Grundlinie der Spirale zu bestimmen, scheiterte dieses Unternehmen vorläufig auch vorzüglich an der Schwierigkeit, Kanälchen beim Pferde aus dem überaus reichlichen Zwischengewebe in ausreichender Länge zu isolieren, sie passend zu färben und aufzuhellen, um gute Grundlagen für diese Feststellung zu gewinnen. Es sollen derartige Versuche noch fortgesetzt werden. An Schnitten und Schnittreihen, an Rekonstruktionsversuchen haftet vorläufig noch der Mangel zu grosser Fehlerquellen.

Die Abstände, in denen identische Bilder im Spiralbande der Spermiogenese sich wiederholen, bezeichnen wir mit Regaud als Cyklus. Dieser Cyklus zerlegt sich in einzelne Stadien, deren wir ebenfalls wie Regaud zwölf unterschieden haben. Es soll damit nicht gesagt werden, dass sich nicht andere Einteilungsarten, vor allen Dingen die Einführung noch weiterer Studienbilder als praktischer erweisen möchten, was auch Regaud selbst andeutet (S. 237). Es schien indessen angebracht, im Interesse einer gewissen Vergleichbarkeit der Ergebnisse bei den Säugetieren von dem Vorgange einer mustergültigen Arbeit, die der Analyse der Rattenspermiogenese, von Regaud abzusehen. Desgleichen erscheint es wiederum aus dem gleichen Grunde angezeigt, als Ausgangsstelle, gewissermassen als punctum fixum des Cyklus, den Zeitpunkt unmittelbar nach der Elimination der fix und fertig gebildeten Spermien aus ihren Verbindungen mit dem Samenepithel zu wählen. Es ist überdies, wie Regaud treffend ausgeführt hat, ein natürlicher Anfang, der Beginn einer neuen Serie von Lebensprozessen im Epithel, und endlich ein Moment leicht scharf und präzise zu erfassen.

Beschreibung der Stadien der Spermiogenese beim Pferde.

I. Stadium. (Fig. 1.)

Das erste Stadium beginnt mit der Ausschaltung der reifen Spermien aus dem Epithelverbande und dauert bis zum Ende

der Resorption der Restkörperchen, die bei der Ausdifferenzierung der Spermatozoen aus den Spermiden übrig bleiben. Man findet in diesem Stadium Spermien völlig oder nahezu vollkommen frei auf der Oberfläche des Epithels liegen (Abb. 1). Ihre Zahl variiert selbstverständlich in bestimmten Grenzen. Es mag auch wohl vorkommen, dass gar keine reifen Produkte mehr hier zu finden sind, sondern alle schon in die distalen Partien des Röhrchens fortgeführt worden sind. Die Restkörperchen liegen beim Pferde, in der Form safranophiler Körperchen, dem Samenepithel auf und zwar finden sie sich wesentlich am Lumen des Kanals. Sie verteilen sich auch zwischen den Spermiden und reichen selten bis in die generative Schicht hinab, wie dies nach Regauds Darstellung bei der Ratte der Fall ist, und wie wir nach eigenen Kontrollen bestätigen können. Im ganzen sind sie in diesem Stadium schon recht spärlich, spärlicher vielleicht als bei der Ratte. Sie spielen überhaupt im Bilde des Samenepithels beim Pferde nur gegen Ende des Cyklus eine bedeutende Rolle. Die Spermiden sind im Anfang dieses Stadiums noch polygonal, haben einen runden, zentral gelegenen Kern, gegen Ende des Stadiums vertauschen sie ihre polygonale gegen die runde Form und kommen nicht mehr so dicht nebeneinander zu liegen. Ihr hämateinophiler Kern beginnt dann eine unregelmässige Form anzunehmen und sich vom Zentrum der Zelle zu entfernen. Mit dieser ersten Andeutung einer Umwandlung aus Samenbildungszellen zu eigentlichen Samenbildungselementen dokumentieren sie ihren neuen Charakter ganz grob und äusserlich — durch innere Umwandlungen können sie schon früher erkennbar sein — und verdienen nunmehr ganz sicher den Namen Prospermien. Zwischen ihnen treten Lücken, Vacuolen auf. Sie liegen in drei bis vier Reihen übereinander und bilden so etwa die an das Lumen angrenzende Hälfte der Zellenmasse des Epithels.

Die Spermiocyten sind in diesem Stadium durch zwei verschiedene Formen vertreten, eine ältere Generation, die dem vorhergehenden Cyklus angehört, liegt im allgemeinen in zwei Reihen dicht unter den Spermiden angeordnet. Es sind sehr grosse Zellen mit einem ziemlich lockeren derben hämateinophilen Chromatinknäuel und safranophilen Lenhossekschen Körperchen. Eine andere, jüngere Generation mit hämateinophilen „croutelles" oder mit einem Synapsisstadium des Kernes liegt darunter. Letztere

Form, die eine zweite Generation der Spermiocyten jüngeren Stadiums darstellt, besitzt recht kleine Kerne mit hämateinophilen groben Chromatinbrocken. Sie liegt in der generativen Schicht zwischen den Sertolischen Kernen und kann auch zuweilen ganz fehlen. Regaud bezeichnet diese Stellen als Gonocyten, sie treten bei der Ratte vom X. Stadium an auf.

Die Spermiogonien, welche hier gewöhnlich ein ganz feines blasses Netz und einen grossen deutlichen rundlichen safranophilen Brocken zeigen, sind nicht zahlreich. Es gibt aber auch welche mit „croutelles" oder solche im Zustande der Mitose, wenngleich diese hier schon recht selten getroffen wird. Denn beim Pferd tritt sie in der Regel in der Hauptsache nach im XII., bei der Ratte nach Regaud früher, im IX. Stadium der Samenbildung auf.

Die Sertolischen Kerne sind faltig und liegen an der Membran des Samenkanals.

II. Stadium. (Fig. 2.)

Das zweite Stadium dauert vom Ende der Resorption der Restkörperchen bis zum Beginn der Bildung einer deutlichen Kopfbildung der Prospermien.

Die Spermatozoen, die diesen Differenzierungsvorgängen des vorigen Cyklus ihren Ursprung verdanken, sind nunmehr restlos verschwunden. Keines von ihnen liegt mehr auf der Epithelinnenfläche, nur äusserst selten findet sich ein Restkörperchen etwa in der Tiefe des Epithels noch vor, aber nie ein Köpfchen in Symphorese mit dem Sertoliplasma. Es scheint mithin die Ausschaltung der reifen Spermien beim Pferde sich in einem vergleichsweise schnelleren Tempo zu vollziehen und auch vielleicht restloser als bei der Ratte, die nach Regauds bildlicher und wörtlicher Schilderung sogar noch im folgenden dritten Stadium Spermienköpfe erkennen lässt. Selbstverständlich lässt diese Abweichung keinen absoluten Vergleich über die Zeitdauer zu; denn es fehlt jeder Anhaltspunkt über die temporäre Folgeweise der Spermiogenesestadien bei der Ratte sowohl wie beim Pferde.

Die Spermiden gehen auf dem Wege der Verwandlung in Prospermien ein recht beträchtliches Stück vorwärts. Das gilt sowohl für den Zellenleib, als für die Kerne. Die Zellenkörper ziehen sich in die Länge und isolieren sich weiter voneinander.

Die Kerne beginnen sich immer mehr und mehr zu kondensieren und vom Zentrum der Zelle weg zu dem Pol hinzu zu wandern, der nach der Peripherie des Kanälchens gerichtet ist. Sie sind im allgemeinen von etwas unregelmässiger Gestalt, spitzen sich aber doch schon an dem aus der Zelle hinausrückenden Ende erkennbar zu, so dass oft etwa die Form eines sehr spitzpoligen Ovoids zustande kommt. Ihr Chromatin ist hämateinophil.

Die lappenförmig dem Kerne angehefteten Körper ragen mit ihrem klumpigen Ende in das Lumen des Kanals hinein und sind lockerer gelagert als im vorhergehenden Stadium, so dass in den zwischen ihnen entstehenden Räumen Vacuolen, feine gerinnselartig aussehende Räume sichtbar werden. Die Spermiocyten sind ebenso wie im vorhergehenden Stadium durch zwei Generationen vertreten. In der älteren hat sich das Chromatinfaserknäuel aufgelockert und beginnt nunmehr safranophil zu werden. Die Spermiocyten der jüngeren Generation treten in den Zustand der Synapsis ein.

Die Spermiogonien besitzen staubartig feine Chromatinkörnchen und sind mit ein oder drei safranophilen Bröckelchen versehen. Sie sind im allgemeinen nicht zahlreich.

Die Sertolischen Kerne machen keine besonderen Änderungen durch, stehen aber zuweilen ganz aufrecht. Häufig liegen sie indes auch unten an der Membran zwischen den Spermiocyten und beginnen bereits Anzeichen einer künftigen Fibrillierung ihres Plasmaterritoriums zu entwickeln.

III. Stadium. (Fig. 3.)

In den Kernen der Prospermien hat sich das Chromatin stark kondensiert und beginnt allmählich von dem hämateinophilen Zustand sich in den safranophilen umzuwandeln. Dabei ändert sich auch die Form des Kernes. Sie wird breitlanzettlich, einem einseitig zugespitzten, ausgezogenen Kartenkaro ähnlich. Das Chromatin, bisher in der Form einer deutlichen Kernstruktur ausgebildet, verliert nunmehr seinen Kernbau. Es wird homogener, lässt aber deutlich noch hellere und dunklere Punkte erkennen. An der breitesten Stelle des Karos lagert sich eine besonders intensiv färbbare, dichte Chromatinscheibe oder vielleicht auch nur ein derartiger Gürtel. Von einer deutlichen Erkennbarkeit der zukünftigen Spermienkopfform ist noch nichts zu bemerken. Der Zellenleib

hängt als scharf begrenzter Plasmalappen etwa von der Form einer elektrischen Glühbirne lumenwärts herab. Deutlich erkennbar ist die Schwanzmanschette und der Achsenfaden. Die Prospermien fangen an sich in Bündeln zu sammeln. Einzelne beginnen bereits symphoretische Beziehungen zu den Sertoli-Elementen zu gewinnen, die in ihrem Plasmaterritorium jetzt deutliche, dunkle Fibrillierung zu bilden begonnen haben. Bei den Spermiocyten der alten Generation ist der Chromatinfaserknäuel noch loser wie im vorigen Stadium. Er bildet Schlingen und wird allmählich auch safranophil. Neben einigen Synapsisbildern beginnt sich in den Spermiocyten der jungen Generation ein fester Knäuel zu bilden.

Die Spermiogonien sind ziemlich selten. Es sind unscheinbare Elemente mit derberen Brocken im Inneren. Regaud beobachtete in diesem Stadium bei der Ratte die erste Mitosis der Spermiogonien, beim Pferde konnte ich eine solche nicht feststellen.

In dem syncytialen Protoplasma finden sich reichlich Vacuolen.

IV. Stadium. (Fig. 4.)

Die Prospermien, die sich bereits im vorigen Stadium in Bündeln zu sammeln begonnen, hatten liegen nunmehr völlig zu Bündeln vereint da, in innigen Beziehungen zum Plasma eines Sertolikernes. Sie drängen sich zwischen die Spermiocyten der älteren Generationen hinein. Ihre Kerne sind noch deutlicher eckig und safranophil. Der protoplasmatische Teil erscheint fein granuliert und die Manschette ist deutlich sichtbar. Die Spermiocyten der älteren Generation bergen einen safranophilen Chromatinfaden, der ring- und achtförmige Touren beschreibt. Gegen Ende dieses Stadiums beginnt die Zerfällung in die Kernsegmente. Die Spermiocyten der jungen Generation besitzen meistens einen dichter hämateinophilen Knäuel und bilden manchmal auch noch eine Synapsis. Sie werden allmählich aus der generativen Schicht herausgedrängt, indem die auftretenden Spermiogonien sie in die Höhe heben. Die Sertolischen Kerne haben keine regelmässige Form und ragen weit über die generative Schicht hinaus.

Die Spermiogonien sind von ovaler Form, jetzt zahlreicher mit staubfädenartigen Chromatinpartikelchen und mit safranophilen Brocken ausgestattet.

V. Stadium. (Fig. 5.)

Die safranophilen Prospermien haben sich nur wenig verändert. Die protoplamatischen Teile sind deutlich sichtbar, verschmälert und zeigen einen kurzen schwanzartigen Faden.

Die Kerne der Spermiocyten der älteren Generationen verlieren ihre Membran, treten in die Karyokinesis ein und bilden Präspermiden (Ebnersche Zellen). Während der Stadien der Äquatorialplatte ist das Chromatin sehr ausgesprochen leuchtend safranophil und wird, nachdem die Chromosomen sich geteilt und sich in die Kerne der Zellen der folgenden Generation verwandelt haben, wiederum hämateinophil. Diese erste Reifungsmitose zeigt überaus charakteristische Eigentümlichkeiten, so dass sie jederzeit auf den ersten Blick erkannt werden kann. Die Spindel, an den Polen mit einem sehr feinen Centriol versehen, ist ein etwas ausgebauchter kurzer Doppelkegel. Die Distanz der Centrosome kommt etwa der Breite der Muttersternplatte gleich. Die Chromosome haben eine recht gut erkennbare ellipsoidische Grundform und stehen so dicht nebeneinander, dass die Grenzen sich ganz und gar verdecken. Von der Fläche gesehen liegen sie unregelmässig verstreut. Ihre Zahl genau festzustellen gelang nicht. Es dürften schätzungsweise nicht weniger als 10, nicht mehr als 16 sein. Diese Mitosen liegen sehr ausgesprochen in Nestern zusammen, deren Ausdehnung im Tubulus in recht geringen Grenzen schwankt. Die Spermiozyten der jüngeren Generation weisen einen festen hämateinophilen Knäuel auf, zuweilen trifft man noch hin und wieder eine Synapsis.

Die Sertolischen Kerne schmiegen sich dicht an die Membran, die Spermatogonien besitzen safranophile Brocken und sind im allgemeinen unverändert.

VI. Stadium. (Fig. 6.)

Die Prospermien erscheinen noch mehr verändert, sind safranophil, werden weniger eckig und sind zu schönen Bündeln angeordnet.

Die Präspermiden sind zum kleinen Teil in Ruhe, zum grösseren in der Mitosis begriffen. Diese Kernteilung besitzt gleichfalls ihre sehr charakteristische Ausgestaltung. Die Spindel ist unverhältnismässig schmächtig, sehr spitzig, die Zellenterritorien oft überraschend gross. Die Spermiocyten der jüngeren Generation,

die jetzt allein übrig sind, liegen in einer Reihe angeordnet über der generativen Schicht. Ihre Kerne sind hämateinophil. Die Chromatinfäden stellen einen festen Knäuel dar.

Die Spermiogonien sind oval, mit safranophilen Brocken versehen. Die Sertolischen Kerne liegen an der Membran. Auch dieses Stadium ist gleich dem fünften sehr kurz.

VII. Stadium. (Fig. 7.)

Die Prospermien sammeln sich zu immer festeren Bündeln, ihre Köpfe sind stark safranophil und haben ihre Eckigkeit der Konturen völlig verloren. Sie haben bereits nahezu die Form der reifen Samenfädenköpfe gewonnen und erleiden nun keine wesentlichen Umformungen mehr. Die protoplasmatischen Anhänge sind feinkörnig und diese staubfeinen Körnchen färben sich wie bei der Ratte sehr stark mit Safranin. Der Achsenfaden ist sichtbar und ist noch von einer recht deutlichen langgestreckten Manschette umschlossen. Die Köpfe drängen sich dicht zusammen und die starke Fibrillierung des Sertoliplasmas nimmt sie auf. Ihre Einsenkung in die Tiefe des Epithels gedeiht hier nie so weit wie bei der Ratte nach Regauds Schilderung und Abbildungen. Doch ist die Symphorese darum nicht weniger intim.

Die neu entstehenden Spermiden sind rund. In ihren Kernen ist ein Netz mit safranophilen Körnchen sichtbar. Sie sind in drei bis vier Reihen unterhalb der Prospermienlage angeordnet. Durch die aufstrebenden Sertolipfeiler gliedern sie sich zu etwa würfligen Gruppen ab.

Die Spermiocyten sind nunmehr nur durch eine Generation dargestellt, die der bisher als jüngere Altersstufe bezeichneten entspricht. Ihr Chromatinfaden ist hämateinophil und bildet einen dichten Knäuel. Einige beharren auch hier noch auf dem Synapsis-Stadium.

Die Spermiogonien sind rundlich und enthalten safranophile Körnchen.

Die Sertolischen Kerne stehen oft vertikal und ragen aus der generativen Schicht hervor. Eine Anzahl ruht auf ihrem längsten Durchmesser horizontal gestellt am Grunde, an der Basis der dicht fibrillierten Plasmapfeiler.

VIII. Stadium. (Fig. 8.)

Die Prospermienköpfe sind safranophil, drängen sich zu noch deutlicheren Büscheln zusammen und haben jetzt völlig in

der Flächen- wie in der Kantenansicht ihre endgültige Form erhalten. Sie laufen aus in eine scharfe Kante, die oft leicht umgebogen erscheint. Auf diesem Stadium dringen sie nicht tief zwischen die Spermiden hinein, unterragen höchstens das Niveau der oberflächlichen Schichten. Sie konvergieren leicht mit ihren distalen Enden auf den zugehörigen Sertolikern hin. Das syncytiale Protoplasma zwischen den Sertolischen Kernen und den Prospermien ist schön faserig. In den Plasmaanhängen gewahrt man noch an deutliche Grenzen gebunden die safranophilen Anlagen der Restkörperchen. Nur hie und da beginnen die Grenzen der protoplasmatischen feinkörnigen Läppchen zu schwinden. Die Spermiden bleiben von jetzt an bis zum Ende des Cyklus, bis sie befreit von der aufliegenden Prospermienschichte an das Lumen angrenzen, nahezu unverändert.

Die Spermiocyten sind durch eine Generation dargestellt, in ihrem Kern bildet der Chromatinfaden einen hämateinophilen Knäuel.

Die Spermiogonien sind staubartig mit safranophilen Körnchen versehen und hier in etwas grösserer Menge zu finden. Ob an dieser leichten Vermehrung eine amitotische Zellenteilung die Schuld trägt, wie sie Regaud für die Ratte beschreibt, lässt sich mit Sicherheit nicht feststellen. Die Frage der Amitose bedarf für das Pferd noch genauer Durchforschung, die später bei der cytologischen Durcharbeitung des Materials gegeben werden soll.

Die Sertolischen Kerne ragen senkrecht empor, und noch stärker aus der generativen Schicht hervor. Das faserige Syncytium verbindet den Sertolischen Kern mit den zu demselben strebenden Spermien. Beim Pferde kommen diese niemals dicht an den Sertolischen Kern heran, wie dies bei der Ratte der Fall ist. Sie halten sich immer in einiger Entfernung von ihnen, so dass die Symphorese nur durch die Sertolischen Plasmateile hergestellt wird.

Die Spermiogonien gewinnen hier die eigenartigen bekannten Beziehungen topographischer Art zu den Sertolikernen. Sie drängen sich ihnen dicht an und bauchen oft die Kernmembran zweier Elemente geradezu ein.

IX. Stadium. (Fig. 9.)

Die Prospermien sind in ihrem letzten Ausbildungsstadium: die Grenzen ihrer protoplasmatischen Anhänger sind nicht mehr

gut zu unterscheiden. Sie haben sich in eine gleichartige mit safranophilen Körnchen durchsäte Masse verwandelt. Diese Körner sind nichts anderes als die Restkörperchen, deren letzte Überbleibsel im ersten Stadium der Samenbildung uns entgegentraten. Die Prospermien liegen jetzt nicht mehr zwischen den Spermiden, sondern über ihnen. Sie haben sich aus dem syncytialen Verbande loszulösen begonnen, haben die Bündelanordnung zum grossen Teile eingebüsst und liegen schon mehr gleichmässig verteilt als innerste Schichte dem zelligen Samenepithel auf. Aus ihr ragen die Schwänzchen weit in das Lumen des Samenkanals hinein.

Die Spermiden sind in drei bis vier Reihen angeordnet, liegen dicht nebeneinander, so dass sie sich infolge des gegenseitigen Druckes polygonal gestalten. Ihre Kerne haben ein hämateinophiles Netz mit einem meist sehr deutlichen safranophilen Körnchen darin.

Die Spermiocyten sind durch eine Generation sehr grosser Zellen dargestellt. Der Chromatinfaden ihrer Kerne stellt einen Knäuel von mittlerer Dicke dar. In ihnen befinden sich sehr deutlich Lenhosseksche Körperchen.

Die Spermiogonien sind rundlich mit hämateinophilen „croutelles" versehen, ausserdem gibt es noch eine geringe Zahl von staubartigen Spermiogonien.

Regaud konstatierte bald bei der Ratte in diesem Stadium die zweite Mitosis der Spermiogonien. Beim Pferde konnte, soweit bis jetzt die Untersuchungen reichen, eine solche Teilung nicht gefunden werden, vielmehr zeigt sich eine mit aller wünschenswerten Deutlichkeit sichtbare Häufung der Spermiogonien-Mitosen erst in späteren Phasen des Cyklus. Ob überhaupt eine doppelte Mitose der Spermiogonien auch für das Pferd zu konstatieren ist, muss vorläufig noch dahingestellt bleiben. Sicher kann man nur sagen, dass sie hier keine sehr grosse Rolle spielen müsste. Jedenfalls waren an diesem Punkte noch eingehende Untersuchungen anzustellen, zumal da auch Schönfeldt beim Stier zwei Spermiogonien-Mitosen kennt.

Ruhende Spermiogonien lassen sich dagegen in der gewohnten Form mit staubförmigem Chromatin und safranophilen „mottes" hier leicht nachweisen. Der Sertolische Kern entfernt sich noch mehr von der Membran, als wenn er den ausgestossenen Prospermien, die sich jetzt in reife Spermien umwandeln, folgen würde, wie dies auch Regaud bei der Ratte vermerkt hat.

X. Stadium. (Fig. 10.)

Die Prospermien haben sich jetzt bereits völlig in eigentliche Spermien umgewandelt und damit hat die histiogenetische Entwicklungsreihe der Elemente, die im Stadium V die ans Lumen angrenzende Zellenreihe bildete, ihren Abschluss erreicht. Sie liegen unordentlich in unregelmässigen Reihen in einer Grundmasse, die mit den safranophilen Körnchen der immer grösser werdenden Restkörperchen gleichmässig durchsetzt ist.

Die Spermiden sind von polygonaler Form, in drei bis vier Reihen angeordnet und zeigen keine besonderen Veränderungen.

Die Spermiocyten sind nur durch eine Generation dargestellt, während bei der Ratte nach Regaud in diesem Stadium eine Spermiocytengeneration auftritt, die der zweiten Mitose der Spermiogonien ihre Entstehung verdankt. Ihre Kerne besitzen einen losen Knäuel von Chromatinfäden. Die Spermiogonien nehmen an Zahl zu, die Sertolischen Kerne sind unregelmässig gestaltet, stehen vertikal und sind wieder näher an die Membran gerückt.

XI. Stadium. (Fig. 11.)

Die Spermien sind endgültig ausgestossen und liegen jetzt in einer noch nicht ganz regelmässigen Reihe dicht nebeneinander auf der Oberfläche der Plasmamasse mit den grobbrockigen Restkörperchen.

Die Schwänzchen reichen noch weiter in das Lumen des Samenkanals hinein, aber ihre schraubenartigen Windungen, die für die Ratte so charakteristisch sind, fehlen beim Pferde.

Die Spermiden sind noch eckig, ihre Kerne rund.

Die Spermiocyten haben einen losen Knäuel und beginnen sich in zwei Reihen zu ordnen, da sie aus der generativen Schicht infolge der Vermehrung der Spermiogonien ausgestossen werden. Die Spermiogonien sind eben zahlreicher geworden. Man begegnet hier schon einzelnen ihrer Mitosen.

Die Sertolischen Kerne liegen gewöhnlich höher als die Spermiogonien.

XII. Stadium. (Fig. 12.)

Die vollkommen reifen Spermien, welche für das Ausstossen fertig sind, liegen nunmehr in einer überaus charakteristischen Weise genau in einer Linie am Rande des Epithels. Unter ihnen liegt eine ziemlich breite Schicht mit Restkörperchen, die auch

zwischen die Zellen des Samenepithels hineinreichen. Wie die Spermien, sind auch die Restkörperchen stark safranophil.

Die Spermiden beginnen sich abzurunden. Ihr Kern verändert nicht wesentlich seine Form, jedoch allmählich seine Lage.

Die Spermiocyten sind durch eine Generation dargestellt und in zwei Reihen angeordnet. In ihren Kernen ist der Knäuel des Chromatinfadens lose.

Die Spermiogonienkerne sind selten staubförmig, meistenteils brockenartig und im Zustande der Mitosis. Diese Mitose hat, wie die beiden anderen Kernteilungen, eine überaus charakteristische Gestalt. Sie ist kleiner als die der Spermiocyten, die Äquatorialplatte erscheint übermässig mit Chromatin beladen. Trotz der besten Methoden ist es ganz unmöglich, die einzelnen Chromosome gesondert darzustellen. Nur am Rande ragen sie in Form abgerundeter Stäbchen hervor.

Die Sertolischen Kerne stehen vertikal an der Peripherie der Samenkanäle.

Die Frage der Synapsis.

In den Stadien I bis IV, vereinzelt auch in weiteren Phasen, fand ich gewöhnlich Spermiocyten mit synaptischen Kernen.

Die Erscheinung der Synapsis wird nicht bei allen Säugetieren beobachtet. So ist z. B. bei der Ratte nach Regaud keine Synapsis vorhanden. Dagegen kommt dem Stadien nach Swaen und Masquelin und nach Schönfeld eine ausgesprochene Synapsis zu, ferner dem Hund nach Loisel, dem Menschen, den Lemuren etc. nach Felizet et Branca, dem Meerschweinchen nach Moore und Walker, nach Benda bei den Monotremen, nach van Mollé beim Igel, beim Kaninchen nach Regaud (S. 390).

In der Beurteilung der Synapsis teilen sich die Forscher in verschiedene Lager. Die einen meinen, dass die Erscheinung der Synapsis eine normale sei, die sich bei einer bestimmten Art von Tieren in bestimmten Stadien findet. Andere sind der Ansicht, dass diese Erscheinung nur durch die Wirkung der Fixationsflüssigkeit hervorgerufen werde. Andere wiederum sprechen sich dahin aus, dass die Synapsis normal sei, nur dass sie infolge der Fixationsflüssigkeiten noch ausgeprägter werde.

Beim Pferde beginnt die Synapsis, wie es scheint, noch vor der Bildung der Kernmembran. Das Chromatin sammelt sich in Form eines Halbmondes, aus dessen offener Seite die Chromatin-

schlingen heraustreten. Die Schlingen nehmen immer mehr und mehr diese offene Seite des Chromatinknäuels ein, und das Chromatin, das bis dahin kompakt war, wird dünn, so dass die Schlingen sichtbar werden. Dieser Halbmond wird schliesslich durch eine Art von Membran, die beide Ecken des Halbmondes verbindet, zu einem Ring geschlossen. Vom vierten Stadium des ersten Cyklus an wird die Synapsis durch einen dichten Knäuel von Chromatinfäden ersetzt. Schliesslich zerfällt der Chromatinfaden im zweiten und dritten Stadium des folgenden Cyklus in einzelne Ringe von bedeutendem Durchmesser. Im vierten Stadium sind diese Ringe noch deutlicher, manchmal jedoch finden sich Ringe, die sich zur Form eines mehr oder weniger grossen Bogens erweitert haben. Diese Bogen nehmen eine solche Lage an, dass ihre freien Enden zur Peripherie, der ausgebuchtete Teil zum Zentrum des Kerns gerichtet ist. Beim Pferde findet sich die Synapsis in allen Präparaten, die nach den besten Methoden konserviert und gefärbt wurden. Um die Technik zu prüfen, wurde in gleicher Weise mit dem Rattenhoden verfahren, und hier wurde ganz wie die Autoren es beschreiben, keine Synapsis aufgefunden. Wir müssen uns daher völlig der Meinung von Regaud anschliessen, dass das Vorkommen oder Fehlen der Synapsis einen je nach der Tierart variablen Faktor darstellt.

Von einer Zusammenstellung der Ergebnisse ist Abstand genommen worden, weil dieser erste Beitrag nur den Rahmen darstellt, in dem die cytologischen Untersuchungen, die Variationen nach Lebenslage, Rasse, Alter erst eingetragen werden sollen. Die wesentlichen Differenzpunkte mit den am besten studierten Säugetierspermiogenesen sind jeweils an dem bestimmten Punkte angeführt worden.

Es soll zum Schlusse noch darauf hingewiesen werden, dass diese vorliegende Untersuchung der Topographie der Pferdespermiogenese noch mancherlei Lücken aufweist, die spätere Untersuchungen werden ausfüllen müssen. Als solche seien hier ausdrücklich die Einzelschicksale der Spermiogonien, besonders die Frage der Duplicität ihrer Vermehrungsarten, die Frage ihrer Amitosen genannt.

Literaturverzeichnis.

Benda: Neue Mitteilungen über die Entwicklung der Genitaldrüsen und über die Metamorphose der Samenzellen. Arch. f. Anat. u. Phys., 1891.

Ebner: Köllikers Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 6. Aufl. VII. Bd., 1902.

Hormann: Beiträge zur Kenntnis der Spermatogenese. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 50.

Lenhossek: Untersuchungen über Spermatogenese. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 51.

Mosselman et Rubay: Cryptorchide et Spermatogenese chez le cheval Annales de medicine veterinaire, 51 Anne, 1902, Bruxelles.

Poll. H.: Keimzellenbildung bei Mischlingen. Verhandl. d. anat. Gesellsch. auf der 24. Versammlung Bruxelles vom 7.—11. Aug. 1910.

Derselbe: Eierstock und Ei bei fruchtbaren und unfruchtbaren Mischlingen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 78, Abt. VI, 1911.

Derselbe: Vorsamenbildung bei Mischlingen. Ebenda, Bd. 77, Abt. II, 1911.

Derselbe: Mischlingskunde und Verwandtschaftslehre. Monatshefte für den naturwissenschaftlichen Unterricht. IV. Bd., 8. Heft, 1911, S. 337—348.

Regaud: Etudes sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogenèse chez les mammifères. Archives d'Anatomie microscopique, Tome XI. 1909—1910, Paris.

Schmaltz: Die Struktur der Geschlechtsorgane der Haussäugetiere, mit anatomischen Bemerkungen. Berlin 1911.

Schoenfeld: La spermatogenese chez le Taureau, communication preliminaire. Arch. de Biologie, T. XVIII, 1902.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel VII.

Sämtliche Figuren sind mit dem Zeichenapparat auf Objekttischhöhe entworfen. Alle Zeichnungen sind bei derselben Vergrösserung App. Öl-Immers. 1.30, Leitz $^1/_{12}$, Okul. 4, Tubuslänge 170 mm, ausgeführt von Frau Dr. Schulz-Henke.

Spg = Spermiogonien; Spgm = Spermiogonienmitose; Spc = Spermiocyten; Spcm = Spermiocytenmitose; Pspd = Präspermiden; Pspdm = Präspermidenmitose; Spd = Spermiden; Psp = Prospermien; Sp = Spermien; S = Sertolikern

Fig. 1. Stadium I: Hengst 475. Fixierung: Zenkersche Flüssigkeit. Färbung: Eisenalaunhämatoxylin-Eosin.

Fig. 2. Stadium II: Hengst 479. Fixierung: Bouin Färbung: Eisenalaunhämatoxylin-Eosin.

Fig. 3. 4. Stadium III und IV: Hengst 479. Fixierung: Tellyesznitzki. Färbung: Hämalaun-Safranin.

Fig. 5. Stadium V: Hengst 476. Fixierung: Flemming. Färbung: Safranin-Lichtgrün.

Fig. 6. Stadium VI: Hengst 475. Fixierung: Flemming. Färbung: Eisenalaunhämatoxylin-Lichtgrün.

Fig. 7. Stadium VII: Hengst 468. Fixierung: Zenker. Färbung: Pikroindigokarmin-Magentarot.

Fig. 8. Stadium VIII: Hengst 548. Fixierung: Tellyesznitzki. Färbung: Hämalaun-Safranin.

Fig. 9. Stadium IX: Hengst 569. Fixierung: Zenker. Färbung: Eisenalaunhämatoxylin-Eosin.

Fig. 10. Stadium X: Hengst 524. Fixierung: Tellyesznitzki. Färbung: Eisenalaunhämatoxylin.

Fig. 11. Stadium XI: Hengst 547. Fixierung: Tellyesznitzki. Färbung: Eisenalaunhämatoxylin-Eosin.

Fig. 12. Stadium XII: Hengst 368. Fixierung: Zenker. Färbung: Eisenalaunhämatoxylin-Eosin.

Aus dem biologischen Laboratorium der Universität Bonn.

Transplantationen embryonaler und jugendlicher Keimdrüsen auf erwachsene Individuen bei Anuren nebst einem Nachtrag über Transplantationen geschlechtsreifer Froschhoden.

Von

R. Meyns.

Hierzu Tafel VIII.

Wie ich in meiner Arbeit: Über Froschhoden-Transplantation dargelegt habe,[1]) ist der Verlauf der Spermatogenese eines transplantierten Froschhodens einer gewissen Gesetzmässigkeit unterworfen. Bekanntlich trägt normalerweise die Samenentwicklung des Froschhodens einen zyklischen, von der Jahreszeit abhängigen Charakter. Rana fusca (brauner Landfrosch), deren Spermatogenese am prägnantesten das Bild des jahreszeitlichen Zyklus bietet, setzt ihre reifen Samenzellen im März ab. Nach Beendigung der Laichzeit erreicht die Entwicklung der Samenelemente fast in jedem Monat ein für diesen charakteristisches Stadium. Während sich bis zum Mai in den Samenkanälchen als Zeugen der abgelaufenen Brunst noch abgestossene Spermatozoenballen finden, ausserdem der Wandung der Tubuli, für die weitere Tätigkeit bestimmt, Spermatogonienketten anliegen, beginnt im Juni die Cystenbildung, die Umwandlung der Cystenzellen in Cystenhäutchen, jene Gebilde, in denen die durch wiederholte Teilung einer Ursamenzelle entstandenen Spermatogonienhaufen ihre weitere Reifung erfahren. Im Verlauf der Monate Juni und Juli findet die Bildung der Spermatozyten statt. Der August zeitigt sodann die Ausbildung der Spermatiden, und im September beobachten wir in den Samenkanälchen die Umbildung letzterer Zellart zu reifen Spermatozoen, sodass man im Oktober ausser reifen Samenfäden nur noch wandständigen Spermatogonien im Froschhoden begegnet. Die folgenden Monate bis zur Brunstzeit verändern dieses Bild der Tubuli nicht mehr wesentlich.

[1]) Vgl. M. Nussbaum, Pflügers Archiv, Bd. 126 und R. Meyns, Über Froschhoden-Transplantation. Arch. f. d. g. Physiologie, Bd. 132.

Wie nun die in der oben erwähnten Arbeit beschriebenen Versuche gezeigt haben, setzt im geschlechtsreifen Froschhodengewebe, falls es überhaupt in dem fremden Organismus zur Anheilung und Regeneration gelangt, unabhängig von der Jahreszeit, in welcher die Übertragung erfolgt, stets eine neue Spermatogenese ein, welche ihren Ausgang von den jüngsten Samenzellen, den wandständigen Spermatogonien, nimmt und es unter Nekrotisierung und Resorption aller älteren Stadien der Samenentwicklung zur Ausbildung neuer reifer Samenfäden bringt. Das Charakteristische dieser Spermatogenese aber liegt darin, dass dieselbe einen um so stürmischeren Verlauf nimmt, je vorgerückter die Jahreszeit ist, in welcher die Überpflanzung des Keimdrüsengewebes vorgenommen wird, mit anderen Worten, je weiter die normale Reifung der Samenelemente bereits gediehen ist.

Während beispielsweise die Ausbildung der Samenzellen in einem zur Laichzeit transplantierten Hodenstückchen mit der normalen im Frühling beginnenden Spermatogenese gleichen Schritt hält, erfolgt im September, zu einer Jahreszeit, in der normalerweise die Reifung der Geschlechtselemente schon nahezu ihren Abschluss gefunden hat, die Regeneration des Transplantates mit einer geradezu sich überstürzenden Spermatogenese, welche sich deutlich darin äussert, dass sie in verhältnismässig kurzer Zeit in einem und demselben Tubulus die verschiedensten Entwicklungsformen der Samenzellen hervorbringt, während normaliter das Hodenkanälchen stets die gleichen Reifestadien enthält. So zeigt das transplantierte Keim-Drüsengewebe des Frosches bei seiner Regeneration das Bestreben, die Entwicklung seiner Zellen sobald wie möglich in den Rahmen des normalen Zyklus der Spermatogenese einzuschalten. Diese Tatsache kann zu der Annahme führen, dass dem erwachsenen Froschmännchen gewisse Kräfte innewohnen, deren jeweilige Intensität, abhängig von den jahreszeitlichen Einflüssen, ihrerseits für den Fortgang der zyklischen Samenreifung von Bedeutung ist, Kräfte, deren schwächere Ausbildung im Frühling in einem zu dieser Jahreszeit übertragenen Hodenstückchen die Spermatogenese nur langsam, deren Zuwachs im Herbst dagegen dieselbe mit einem ausserordentlich viel schnelleren Tempo in die Wege leitet.

Konnten wir nun dies feststellen, dass das jahreszeitliche Alter erwachsener Froschkastraten bei der Regeneration ge-

schlechtsreifer Hodentransplantate die Schnelligkeit der neu beginnenden Samenreifung bestimmt, so erhob sich jetzt die weitere Frage, ob das Lebensalter des Frosches überhaupt auch die erste Reifung der Geschlechtsdrüse zu beeinflussen imstande sei. Der Gedanke, es könnte eine jugendliche Keimdrüse im Organismus eines erwachsenen Tieres einen rascheren Entwicklungsgang nehmen, als dies normalerweise der Fall sei — erst im vierten Lebensjahre wird der Frosch geschlechtsreif — lag nach den gemachten Erfahrungen nicht allzu fern. Allerdings die Tatsache, dass bei Rana die Entwicklung der Geschlechtsdrüse insoweit von derjenigen des Soma unabhängig verläuft, als sehr oft bei Kaulquappen, also Larvenformen, schon makroskopisch eine geschlechtliche Differenzierung der Keimdrüsen bemerkbar ist, während bei jungen Fröschen nach der Metamorphose die Geschlechtsdrüsenanlage kaum mit der Lupe erkennbar zu sein braucht und umgekehrt, musste Veranlassung auch zu der gegenteiligen Schlussfolgerung geben. Um diese Frage nach dem weiteren Schicksal immaturer Keimdrüsen im Körper erwachsener Tiere zu prüfen, wurden die unten näher zu beschreibenden Versuche angestellt.

Da dieselben zum Gebiete der embryonalen Gewebstransplantationen auf erwachsene Individuen gehören, möchte ich vorerst kurz über die diesbezügliche Literatur berichten:

P. Bert[1]) versuchte ganze Rattenembryonen in die Bauchhöhle von älteren Tieren derselben Spezies einzupflanzen und fand dabei als Resultat die gänzliche Resorption dieser Transplantate. In ähnlicher Weise implantierte Leopold Kaninchenföten in das Abdomen erwachsener Tiere derselben Art und beobachtete dabei Resorption der Weichteile und Wucherungserscheinungen am Knorpel. Ebenso fand er, dass Knorpelstückchen, die er in die Bauchhöhle und in die vordere Augenkammer von Kaninchen brachte, starke Wucherungstendenz zeigten, die sich um so stärker bemerkbar machte, je jünger der Embryo war, welchem das Transplantat entnommen war. Nach 205 Tagen hatte sich ein Knorpelstückchen bis auf das 300fache vergrössert. Auch Fischer[2]) konnte feststellen, dass der Knorpel von embryonalen

[1]) Zitiert nach S. Saltikow: Über Transplantation zusammengesetzter Teile. Arch. f. Entwicklungsmechanik, Bd. 9, 1900.

[2]) l. c.

Hühnerextremitäten, auf erwachsene Tiere übertragen, sich zu einer grossen Knorpelgeschwulst ausbildete, welche nach neun Wochen zwei- bis dreimal dicker als die implantierte Extremität selbst war. Ebenso hebt Zahn die stärkeren Wucherungserscheinungen bei transplantiertem embryonalen Kaninchen- und Katzenknorpel gegenüber erwachsenem hervor. Bei Muskeln hingegen fand er niemals Wucherungsvorgänge. Féré und Elias machten Transplantationsversuche mit noch nicht differenzierten Geweben von Hühnerembryonen und erzielten dabei tumorartige Neubildungen, die aus Epithelien, Muskeln, Knochen, elastischem Gewebe und Knorpel bestanden. Auch hier wird die starke Wucherungsfähigkeit des Knorpels besonders betont. Einer solcher Tumoren soll nach ihnen über vier Jahre sich erhalten haben. Die Experimente von Birch-Hirschfeld und Garten[1]) bestätigen ebenfalls das grosse Vermehrungsbestreben überpflanzter embryonaler Knorpelzellen. Fein zerzupftes, noch wenig differenziertes Embryonalgewebe, welches in die Leber verschiedener Tiere injiziert war, lieferte hier Wucherungen, die etwa Erbsengrösse erreichten und die Entwicklung des Knorpels am meisten in Erscheinung treten liessen. Saltikow,[2]) welcher bei seinen Versuchen hauptsächlich die Extremitäten älterer fast ausgetragener Föten von weissen Mäusen benutzte, berichtet, dass von den Geweben, die er transplantierte: Epidermis, Muskel, Knochen und Knorpel, nur der letztere eine stärkere Wucherungsfähigkeit äusserte, als der erwachsene. Besonders weist er darauf hin, dass sich in übertragenen embryonalen Geweben derselbe Prozess abspiele, wie in erwachsenen Geweben: „Keine Gewebsart ist nach der Transplantation einfach weitergewuchert, alle sind vielmehr degeneriert und dann erst zeigten sie Regenerationserscheinungen.“ Dieser Befund wird, wie wir unten sehen werden, auch von unseren Versuchen bestätigt.

Transplantationen embryonaler, bereits differenzierter Gewebe von inneren Organen auf ältere Tiere sind meines Wissens erst wenig geübt worden. Galeotti und Villa Santa[3]) ver-

[1]) l. c.

[2]) S. Saltikow: Über Transplantation zusammengesetzter Teile. Arch. f. Entwicklungsmechanik, Bd. 9, 1900.

[3]) Galeotti und Villa Santa: Sugli innesti con cellule embrionali, tra tessuti ontogeneticamente affini. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. XIII, 1902.

pflanzten in die Niere erwachsener Kaninchen unter anderem auch fein zerzupftes Ovarial- und Testikelgewebe von Embryonen derselben Spezies. Sie fanden als Folgen dieser Transplantationen im genannten Organ Wucherungen von Zellen, deren Charakter indessen nicht mit Sicherheit festgestellt werden konnte. Die Versuche ergaben also keinen genügenden Aufschluss über das weitere Schicksal der genannten transplantierten Organgewebe im Körper der geschlechtsreifen Tiere.

Bessere Erfolge glaube ich nun mit der Übertragung der Keimdrüsen von Anurenlarven oder ganz jungen Fröschen, welche die Metamorphose soeben erst beendet hatten, auf erwachsene Individuen derselben Art erzielt zu haben.

Die jungen Tiere, denen der zu transplantierende Hoden oder Eierstock entnommen wurde, gehörten den Arten: Rana fusca und Rana esculenta an. Die Erkennung der Larvenform dieser beiden Spezies macht keine besonderen Schwierigkeiten. Das sicherste Unterscheidungsmerkmal besteht hier, wie bei allen Kaulquappen, in der verschiedenen Anordnungsweise der Zahnleisten. Ob man nun für die Übertragung die Geschlechtsdrüse einer Larve oder diejenige eines jungen Frosches, der das Larvenstadium gerade verlassen hatte, benutzte, war wohl von ziemlich untergeordneter Bedeutung; denn, wie schon oben betont wurde, besitzen die Larvenformen oft weiter in der Entwicklung vorgeschrittene Keimdrüsen als die jungen Frösche. Es ist daher wohl angängig, unter Umständen auch den jungen Fröschen exstirpierten Keimdrüsen noch larvalen Charakter beizumessen. Ausserdem diente in einem Falle, über den ich später noch näher zu berichten haben werde, das Hodenstückchen eines Frosches aus dem dritten Lebensjahr — seine Länge von der Kopfspitze bis zum Steiss betrug 4,3 cm — dem Transplantationsversuch.

Da nun die Einschaltung der Samenentwicklung von geschlechtsreifen Hodentransplantaten in den normalen spermatogenetischen Zyklus bei Kastraten beobachtet worden war, und sich aus meinen früheren Versuchen überhaupt ergeben hatte, dass Frösche, denen die Keimdrüsen exstirpiert waren, zur Regeneration transplantierten Hodengewebes viel mehr neigten als normale Tiere, so wurden auch jetzt wieder die erwachsenen Frösche, auf welche die Gewebsverpflanzung erfolgen sollte, voll-

ständig kastriert. Sie gehörten, wie die jungen Tiere, ebenfalls den Arten Rana fusca und Rana esculenta an. Zunächst waren, dem Zweck der Untersuchung entsprechend, vor allem homoplastische Übertragungen geplant. Gelangen jedoch diese Versuche, so war der Erfolg einer heteroplastischen Transplantation eigentlich auch nicht mehr in Zweifel zu ziehen; denn schon früher waren von mir heteroplastische Überpflanzungen von geschlechtsreifen Hoden bei Fröschen mit positivem Ausgang angestellt worden, und die Erfahrung Saltikows,[1]) dass „embryonale Gewebe die Heteroplastik besser ertragen als erwachsene," musste die Aussicht auf Gelingen noch günstiger gestalten. Es wurde daher auch diese Transplantationsart geübt. Die weitere Versuchsordnung war nun dazu geeignet, noch eine andere Frage zu entscheiden. Die meist vorhandene Unmöglichkeit, schon bei der Operation das Geschlecht der jungen Keimdrüsen festzustellen, machte es notwendig, sowohl männliche wie auch weibliche Kastraten als Versuchstiere zu verwenden. Eine hinreichende Anzahl von Operationen konnte eine gewisse Gewähr dafür bieten, dass die Keimdrüsen einmal auf gleichgeschlechtliche Tiere, worauf es zunächst ankam, sodann aber auch auf andersgeschlechtliche Tiere transplantiert wurden. Nachdem bereits Meisenheimer[2]) die Geschlechtsdrüsen bei Schmetterlingslarven homoplastisch mit gutem Erfolge vertauscht hatte, konnte somit die Möglichkeit oder Unmöglichkeit, Hoden auf Weibchen, und Eierstock auf Männchen zu übertragen, auch für die Wirbeltiere, speziell für Rana festgestellt werden. Schon im Sommer dieses Jahres versuchte ich bei Fröschen, reifes Hodengewebe ausser auf normale, auch auf kastrierte Weibchen zu verpflanzen. Die Experimente verliefen damals mit negativem Resultate. Ich hielt dasselbe nicht für entscheidend, sondern führte es auf die ungewöhnlich grosse Hitze der Jahreszeit zurück, welche viele der Versuchstiere getötet und sicherlich auch die Anheilung und ein gedeihliches Wachstum der Transplantate gestört hatte. Es wurde mir daher durch meine jetzigen Untersuchungen die Gelegenheit geboten, jene Frage, wenigstens für jugendliche Keimdrüsen aufs neue zu studieren.

[1]) l. c.

[2]) Meisenheimer, J. Experiment. Studien I. Jena 1909.

Im übrigen gestaltete sich die Operationsmethode folgendermassen:

Die Versuchstiere erhielten zunächst eine Äthernarkose. Die Dosis der unter einer Glasglocke verdampften Äthermenge wurde so gewählt, dass sie gerade die Frösche zur Betäubung brachte; diese Äthergaben vertragen die Tiere gut, während eine weitere Verabreichung meistens ihren Exitus herbeiführt. Nach der angegebenen Dosis dauerte die Narkose etwa $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunden, sodass man in bequemer Weise zu operieren vermochte. Zudem war die Äthernarkose insofern von Vorteil, als sie einen vollkommenen Kollaps der Lungen bewirkte, welcher den Eingriff in die Abdominalhöhle natürlich wesentlich erleichterte. Was die Technik der Kastration anbetrifft, so kann ich hier auf die von mir früher gemachten Angaben verweisen.[1]) Nur soviel sei bemerkt, dass es nützlich ist, im Gegensatz zur Hodenentfernung für eine bequeme Totalexstirpation der Ovarien den Bauchschnitt etwa $^1/_2$ bis 1 cm weiter nach vorn anzulegen. Nach beendeter Kastration, bei der man gut tut, die Fettkörper in der Bauchhöhle zurückzulassen, um den Ernährungszustand des Frosches bei der Obduktion besser beurteilen zu können, wurden wiederum möglichst kleine Stückchen von den Keimdrüsen der frischgetöteten jungen Tiere direkt aus der Leibeshöhle in diejenige des erwachsenen Individuums überführt. Je nach der Grösse der Geschlechtsdrüsen wurden entweder diese in toto oder Teilstückchen von ihnen mittels feinen Seidenfadens auf der neuen, durch leichtes Anfrischen hyperämisierten Unterlage befestigt. Als solche diente zum grössten Teil das parietale Peritoneum, sodann auch visceral die Niere oder das Mesorchium; letztere Organe aus dem Grunde, um neben der Hauptuntersuchung gleichzeitig nachzuprüfen, ob zwischen jungen Froschkeimdrüsen, deren Ausführungsgänge sich mit den Urnierenkanälchen noch nicht vereinigt hätten und erwachsenen Nieren, welche bei Rana bekanntlich persistierende Urnieren darstellen, respektive den im Mesorchium verlaufenden extratesticulären Ductuli efferentes noch eine Verbindung herstellbar sei. War dieser Prozess angängig, so lag das dauernde Fortleben auch der männlichen Geschlechtsdrüse nicht ausser dem Bereich der Möglichkeit; denn die Hauptbedingung für die Existenz dieses

[1]) l. c.

Organes war damit vorhanden: es konnte funktionieren, seine Produkte absetzen. Ich will jedoch schon hier bemerken, dass die Versuche hinsichtlich dieses Punktes zu keinem Resultat geführt haben.

Nach vollzogener Transplantation wurden Muskel- und Bauchfellwunden durch 2—3 gemeinsame Seidennähte, die Hautwunden für sich allein ebenfalls durch 2—3 Nähte geschlossen. Darauf wurden die Tiere in einem sterilen Glasbehälter bis zur Heilung ihrer Wunden gehalten. Diese hatte sich meistens im Verlauf von 3—4 Tagen vollzogen. Auch nach Entfernung der Hautnadeln blieben nun die Tiere noch 1—2 Tage in ihren sterilen Gefässen, dann wurden sie ins Aquarium gesetzt und bis zur Obduktion regelmässig gefüttert. Als Nahrung dienten meist Regenwürmer, welche von der Mehrzahl der Tiere freiwillig genommen wurden. Denjenigen, welche sie verweigerten, — es waren solche, die schon längere Zeit in der Gefangenschaft gelebt hatten und welche vorher künstlich genährt worden waren — musste das Futter, das aus einem Streifen frischen Fleisches oder ebenfalls aus Regenwürmern bestand, weiterhin künstlich beigebracht werden. Die aus ihrer neuen Umgebung gelösten Transplantate wurden in Flemmingscher Lösung gehärtet. Dementsprechend erfolgte die Färbung der 5—10 μ dicken Schnitte mit Safranin.

Im folgenden betrachten wir zunächst die homoplastischen Transplantationen:

1. Am 28. August 1911 wurde ein erwachsener grüner Wasserfrosch männlichen Geschlechts doppelseitig kastriert. Gleichzeitig wurde ihm die Keimdrüse einer frisch getöteten Larve derselben Spezies an das die grossen Nierengefässe und Nervenplexus führende paranephritische Gewebe angenäht. Die Keimdrüse der Kaulquappe war noch sehr schwach entwickelt und eine geschlechtliche Differenzierung keineswegs erkennbar. Am 13. September 1911 erfolgte zwecks Untersuchung die Sektion des Tieres. Der Versuch hatte somit eine Dauer von 16 Tagen.

Nach Eröffnung der Abdominalhöhle erkannte man die transplantierte Drüse als ein kleines an der Nierenspitze gelegenes grau durchscheinendes Gebilde von länglich abgeplatteter Form wieder. Ihre Grösse schien bei makroskopischer Betrachtung im Verlaufe der Versuchszeit unverändert geblieben zu sein. Bei

der mikroskopischen Untersuchung sieht man die ehemalige Keimdrüse der Esculentalarve in unmittelbarer Nähe der Nierenspitze liegen. Sie ist durch eine schmale Bindegewebsbrücke, in deren Mitte eine relativ grosse Arterie zum Transplantat verläuft, mit paranephritischem Gewebe verbunden.[1]) Was nun das Parenchym der Keimdrüse anbetrifft, so ist dasselbe während des Versuches sehr gut erhalten geblieben. Nirgends sind Spuren eines Zellzerfalles aufzufinden: die reiche Vaskularisation der neuen Unterlage hat offenbar ein Zugrundegehen grösserer Gewebsbezirke verhütet und die Resorption von nekrotischem Material, welches immerhin einige Zellen vor einer genügenden Gefässversorgung geliefert haben mögen, schon ermöglicht. Es beweisen vielmehr die vorhandenen Mitosen auch die fernere Lebensfähigkeit der übertragenen Geschlechtszellen. Ausser den Gefässen ist kein Granulationsgewebe in das Parenchym eingewuchert, sodass die Drüse nach wie vor der Transplantation einen abgeschlossenen Komplex eng zusammenliegender Keimzellen darstellt. Das überpflanzte Organ, welches von Peritonealepithel bekleidet ist, steht auf der Entwicklungsstufe der embryonalen Froschkeimdrüse.[2]) Eine Geschlechtsdifferenzierung hat noch nicht stattgefunden; vielmehr setzen sich die Zellnester zum grossen Teil noch aus gleichartigen, undifferenzierten „Geschlechtszellen" zusammen. Andere Zellnester hingegen haben einige ihrer Komponenten schon zu Follikelzellen umgebildet, lassen indessen den Charakter ihres zukünftigen Geschlechtes noch nicht zur Genüge hervortreten. Leider ging die zweite Keimdrüse der getöteten Kaulquappe bei der Operation verloren, sodass ein Vergleich des Transplantates mit ihr nicht möglich war. Ich glaube aber, dass aus dem Vorstehenden genügend hervorgeht, dass das übertragene Organ im Verlauf der Versuchszeit auf seiner embryonalen Stufe stehen geblieben ist und dass von einer Weiterentwicklung im Sinne einer schnelleren Reifung im erwachsenen Organismus, wie sie oben angedeutet wurde, hier keine Rede sein kann. Wenn man auch die Kürze der Versuchszeit berücksichtigt, dürfte doch wohl die Annahme berechtigt sein, dass, falls der übertragenen Keimdrüse überhaupt eine Disposition zu rascherem Wachstum im Körper des geschlechtsreifen Frosches eigen gewesen

[1]) Vgl. Fig. 1.
[2]) Vgl. Fig. 2.

wäre, die Anfänge dieses Prozesses schon hätten in Erscheinung treten müssen. Jedenfalls ergibt sich aus dem geschilderten Versuche wenigstens soviel, dass die Transplantation embryonaler undifferenzierter Froschkeimdrüsen auf erwachsene männliche Kastraten derselben Spezies wohl angängig ist: die junge Keimdrüse wird von dem nachbarlichen Gewebe neu vaskularisiert und zeigt durch Mitosen ihrer Zellen ihr gedeihliches Wachstum an.

Im Gegensatz zu dem positiven Ausgang des eben besprochenen Versuches sind einige andere homoplastische Transplantationen, bei welchen ebenfalls die Niere die neue Unterlage für das zu übertragende Objekt bildete, im grossen und ganzen misslungen. Dieses negative Ergebnis ist indessen durch die Art des Experimentes selbst bedingt: Eine Anfrischung der Niere und schon die das Transplantat befestigende Naht allein sind infolge des ausserordentlichen Gefässreichtums jenes Organes meistens von ganz profusen Blutungen begleitet, sodass eine völlige Einbettung der überpflanzten Geschlechtsdrüse in dem reichlich entstandenen Blutgerinnsel fast immer unvermeidlich wird. Die Resorption so grosser Gerinnungsmengen kann, wie auch die Versuche es ergeben haben, natürlich nur durch Organisation erfolgen und ist daher mit beträchtlicher Bindegewebswucherung verbunden. Die Folgen dieses Prozesses sind klar: Das aus den Granulationen hervorgehende Narbengewebe erstickt die Lebenskraft der jungen Keimzellen, verursacht ihre Umwandlung in eine körnige Detritusmasse, welche dann von Phagocyten aufgenommen und fortgetragen wird, und über kurz oder lang ist die ganze Geschlechtsdrüse durch wucherndes Bindegewebe ersetzt. Immerhin kann dieser Vorgang eine recht beträchtliche Zeit in Anspruch nehmen. Wie aus einem Versuche, welcher 58 Tage dauerte, hervorgeht, können, auch wenn der geschlossene Zellverband der Keimdrüse durch das Granulationsgewebe gesprengt ist, viele der in diesem zerstreut liegenden Keimzellen sich noch weiterhin recht gut erhalten, ja sogar bisweilen Mitosen zeigen. Dass jedoch auch sie bei längerer Ausdehnung des Versuches dem Untergang anheim gefallen sein würden, hat die grösste Wahrscheinlichkeit für sich.

Noch eine andere Ursache könnte man indes für die Nekrose der auf die Niere überpflanzten Geschlechtszellen verant-

wortlich machen, nämlich die Sekretion der dem Transplantat benachbart liegenden Harnkanälchen. In der Tat ist die Annahme einer letalen Wirkung des Harns auf das junge Keimdrüsengewebe bei der ersten Überlegung sehr bestechend: ihre Berechtigung erleidet jedoch wesentliche Einbusse durch die mikroskopische Untersuchung: Wie diese nämlich ergibt, fällt gerade das die Keimdrüse begrenzende Nierenparenchym ebenfalls einer Degeneration zum Opfer. Da es auf solche Weise ausser Funktion gesetzt wird, kann also die Harnabsonderung als schädigender Faktor sicherlich nur eine untergeordnete Rolle spielen. Eine andere Frage ist die, ob nicht vielleicht die Zerfallsprodukte der Nierenkanälchen mit für den Untergang des Transplantates von Bedeutung sind. Wie dem aber auch sei, jedenfalls scheint, falls ein deletärer Einfluss der beiden letztgenannten Momente überhaupt in Betracht kommt, derselbe hinter demjenigen der starken Narbenbildung zurückzustehen, welch letztere also wohl als Hauptursache für den Tod der transplantierten Geschlechtsdrüse betrachtet werden darf. Es wäre demgemäss diese Art der Transplantation nicht zu empfehlen. Bessere Resultate aber kann man von den Versuchen erwarten, bei welchen die Befestigung des zu übertragenden Gewebes am parietalen Peritoneum erfolgt, da hierbei stärkere Blutungen und ihre Folge, das Auftreten grösserer Granulationsmassen, leicht zu verhüten sind. Von den hierher gehörigen Experimenten hebe ich die bemerkenswertesten im folgenden hervor:

2. Einem geschlechtsreifen Landfroschmännchen wurde am 26. Oktober 1911 nach vollständiger Kastration sofort je eine Keimdrüse von zwei jungen Fröschchen derselben Art, welche die Larvenform noch nicht lange aufgegeben hatten, auf das parietale Peritoneum überpflanzt, und zwar die eine unterhalb des rechten und die andere unterhalb des linken zur Hodenexstirpation angelegten Bauchschnittes. Die Dekapitation des erwachsenen Tieres erfolgte am 11. Dezember 1911, sodass die beiden Transplantate 46 Tage auf ihrer neuen Unterlage verblieben. Die beiden an unserem Versuchstiere gleichzeitig angestellten Transplantationen endigten nun mit verschiedenen Resultaten, die eine mit positivem, die andere mit negativem Resultate. Im folgenden sei zunächst nur von dem ersteren Versuch die Rede.

Bei der Obduktion des Frosches war das diesbezügliche Transplantat unterhalb der gesetzten Bauchnaht leicht wieder zu erkennen: Es besass etwa die Grösse von $1^1/_2$ cmm und war von länglicher Gestalt. Während es mit einer schmalen Seite der Bauchwand aufsass, ragte es mit seiner längsten Ausdehnung unter einem schiefen Winkel zur Unterlage frei in die Bauchhöhle hinein. Bei Lupenvergrösserung liess seine Oberfläche eine feine Granulierung erkennen, die nach der mikroskopischen Untersuchung durch kleinere und grössere unversehrte oder in Degeneration begriffene Eier bedingt war.

Die mikroskopischen Bilder der Serienschnitte zeigen nun, dass sich zwischen dem Transplantat und der Muskulatur der Bauchwandung eine Verbindung bindegewebiger Natur hergestellt hat. Neue Gefässe haben hier von der Unterlage aus einen Weg in das Drüsengewebe gefunden. An der peripheren Verwachsungszone aber bahnt sich zwischen den Zellen des parietalen Bauchfells und den Peritonealzellen des Ovariums noch eine weitere Vereinigung an, welche ganz charakteristisch ist, jedoch an anderer Stelle nähere Erwähnung finden soll. — Das parenchymatöse Gewebe der Geschlechtsdrüse hat seit seiner Übertragung einige Veränderungen erfahren. Seine Entwicklungsstufe zurzeit der Transplantation führt das Vergleichspräparat vor Augen, von dem etwa die grössten Eizellen in Fig. 3 dargestellt sind. Im Verlaufe der 46 Tage sind nun verschiedene dieser grösseren, aber auch ein Teil der kleineren Eier mehr oder minder ausgesprochenen Degenerationsprozessen anheim gefallen. Dieselben finden ihren Ausdruck bald in unregelmässiger oder verwaschener Zeichnung der Kernmembran, bald mehr in der atypischen Anordnung des Kerngerüstes, bei der die Chromatinfädchen ihre sonst so zierliche Struktur verloren und sich zu kleineren und grösseren Klümpchen zusammengeballt haben, Klümpchen, welche die vorzügliche Färbbarkeit des lebenskräftigen Chromatins durch Safranin hier in stärkerem, dort in schwächerem Maße eingebüsst haben. Bei anderen Eiern treten die Zerfallserscheinungen noch mehr hervor: Der Dotter hat bei ihnen schon einen grobkörnigen Zerfall erlitten. Der bei normalen jungen Eizellen vorhandene Dotterkern, jenes Körnchenkonglomerat, welches sich durch seine gröbere Granulierung und dunklere Färbung von dem übrigen Dotter ziemlich scharf abhebt,

hat sich aufgelöst; seine Bestandteile liegen unregelmässig in dem anderen Dotterdegenerat zerstreut umher, ja sind bisweilen überhaupt nicht mehr nachweisbar. Wieder andere Zerfallsbilder zeigen die Einwanderung von phagocytären Elementen in die Eizellen, ferner die Vergrösserung und Vermehrung: Mitosen der Follikelzellen mit ihrer Fähigkeit, Detritus in sich aufzunehmen. Endlich finden wir an Stelle früherer Eier nur noch Zellhaufen, die aus Leukocyten und anderen mit phagocytären Eigenschaften ausgestatteten, der Eihülle entstammenden Elementen bestehen. Des näheren sind diese Degenerations- und Resorptionsvorgänge von Harms[1]) für das Ovarialgewebe der Tritonen beschrieben worden. Seine Befunde decken sich im ganzen mit den meinigen, sodass ich hier auf seine Arbeit verweisen kann. Ausser den Eiern sieht man nun hier und da auch ganz junge Keimzellen, welche einen ausgeprägten Geschlechtscharakter noch nicht besitzen, von Rückbildungsprozessen befallen.

Diese Absterbungserscheinungen in einzelnen kleinen Bezirken unseres Transplantates sind offenbar nur die Folge einer teilweisen Unterernährung, jenes Vorganges, der ja überhaupt bei jeder auch von Erfolg begleiteten Gewebsübertragung in mehr oder minder ausgesprochenem Maße angetroffen wird, wie meine früheren Versuche gezeigt haben.[2]) Wie andererseits solche Gewebsteile, welche nach ihrer Überpflanzung rechtzeitig mit genügender Nahrungszufuhr versehen werden, an ihrem neuen Standorte weiterhin lebens- und vermehrungsfähig bleiben können, so auch in vorliegendem Falle. Eine recht beträchtliche Anzahl grösserer sowie kleinerer Eier ist durchaus gut erhalten geblieben. Kern, Dotter nebst Dotterkern sowie Follikelepithel haben hinsichtlich ihrer Struktur ein vollkommen normales Aussehen bewahrt. Über das fernere Schicksal, welches diese Eier bei längerer Versuchsdauer getroffen hätte, kann wohl kein Zweifel mehr bestehen. Die in der Nachbarschaft jener Zellen liegenden Blutgefässe versprechen ihnen auch für die Zukunft ausreichenden Stoffwechsel und damit weiteres Gedeihen und Wachstum. Bisher hat allerdings im Laufe der 46 Tage eine nachweisbare Ver-

[1]) Harms, Ovarial-Transplantationen auf fremde Spezies bei Tritonen. Zoolog. Anzeiger, Bd. 37, Nr. 12—13, 1911. Vgl. auch Burkardt, Archiv f. mikr. Anat., Bd. 79, Abt. II, 1912.

[2]) Vgl. R. Meyns, Pflügers Arch., Bd. 132, 1910.

grösserung der Eier nicht stattgefunden. Ein Blick auf die Fig. 3 und 4, in welchen die etwa am weitesten entwickelten Zellen des Transplantates und seines Kontrollpräparates dargestellt sind, überzeugt, dass zwischen denselben hinsichtlich ihrer Grösse kein wesentlicher Unterschied besteht. Freilich ist es nötig, die Versuche noch längere Zeit auszudehnen. Zur gegebenen Zeit werde ich über die Ergebnisse berichten.

Was ferner die jüngsten Eier und die Keimzellen mit äusserlich noch indifferentem Charakter betrifft, so machen auch sie in reichlicher Anzahl einen gänzlich unversehrten lebensfrischen Eindruck, welcher durch die Anwesenheit von ziemlich vielen Teilungsfiguren[1]) nur noch verstärkt wird.

Daraus ergibt sich also, dass das immature Ovarialgewebe des jungen Fröschchens mit Erfolg auf das geschlechtsreife Männchen übertragen wurde; und damit ist, nachdem, wie gesagt, Meisenheimer[2]) bereits bei Schmetterlingslarven Hoden auf weibliche und Eierstöcke auf männliche Individuen homoplastisch mit gutem Erfolge überpflanzt hatte, nunmehr auch für Wirbeltiere, speziell unter den Amphibien für Rana die Möglichkeit der Transplantation von Keimdrüsensubstanz auf andersgeschlechtliche Tiere derselben Spezies erwiesen worden. Diese wohlgelungene Übertragung des geschlechtsunreifen Eierstocks auf das erwachsene Froschmännchen verspricht mit einigermassen grosser Sicherheit ein positives Resultat auch für den umgekehrten Versuch. Ebenso dürfte es sehr wahrscheinlich sein, dass bei Fortsetzung der von mir im Sommer angestellten obenerwähnten Experimente die Vertauschung maturer Geschlechtsdrüsen bei Anuren-Kastraten gleichfalls zu einem günstigen Ergebnis führen wird.

Im Anschluss hieran möchte ich kurz zweier anderer Versuche Erwähnung tun, bei welchen, wie im vorhergehenden Falle Ovarialgewebe von jungen Landfröschen aus dem ersten Lebensjahre an das angefrischte parietale Peritoneum geschlechtsreifer Männchen derselben Art genäht wurde. Es handelt sich einmal um die zweite an dem vorigen Versuchstiere vorgenommene Transplantation, von deren Misslingen bereits die Rede war. Das gesamte Ovarialparenchym ist hier im Laufe der $6^1/_2$ Wochen einer mehr oder minder hochgradigen Degeneration anheim

[1]) Vgl. Fig. 5.
[2]) l. c.

gefallen. Reichliches, von vielen Gefässen, weissen und roten Blutkörperchen durchsetztes Granulationsgewebe, das sich seinen Weg zwischen die zugrunde gehenden Eizellen gebahnt hat, zeugt von deren baldigem völligen Untergang. Alle Stadien des Nekrotisierungsprozesses: die ersten Absterbungserscheinungen des Kernes, kenntlich an seinen unscharfen Konturen, sodann der grobkörnige Zerfall des Dotters, die Einwanderung zahlreicher Phagocyten, welche sich in denselben förmlich hineinfressen und mit Detritusmassen voll beladen die Gefässe wieder aufsuchen, endlich der Ersatz des resorbierten Eies durch Granulationszellen sind an dem Präparat gut zu studieren. — Der andere hierher gehörige Versuch, welcher vom 25. Oktober bis zum 14. September 1911, mithin 20 Tage dauerte, hat kein entscheidendes Resultat geliefert: Ein Teil sowohl der älteren, wie der jungen Geschlechtszellen im Transplantat ist hier in Entartung begriffen. Wohl die überwiegende Zahl von ihnen aber trägt in keiner Weise Merkmale regressiver Veränderungen. Zwischen den Eiern der Keimdrüse beobachtet man eine ausserordentlich starke Vascularisation, welche einerseits die Resorption des abgestorbenen Materials rasch zu erledigen verspricht, andererseits die fernere Erhaltung des bisher unversehrten Parenchyms nicht ausgeschlossen erscheinen lässt. Die Gefässe tragen allerdings keinen normalen Charakter. Es würde jedoch zu weit führen, an dieser Stelle nähere Details darüber anzugeben. Da auch Mitosen in den Serienschnitten noch nicht nachgewiesen werden können, so ist der Erfolg der Transplantation zum mindesten ein zweifelhafter, und ein Urteil über das Schicksal des längere Zeit mit seiner Unterlage vereinigten Ovariums ist mit Bestimmtheit nicht zu fällen.

Was nun aber diese beiden Experimente interessant macht und weshalb ich mich an dieser Stelle überhaupt etwas näher über sie auslasse, ist der Prozess der Verwachsung zwischen dem Transplantat und seiner Unterlage, dem Peritoneum. Dort, wo die Epithellage des letzteren beim Anfrischen entfernt wurde, ist eine aus Bindegewebe und Gefässen bestehende Verbindung zwischen den beiden Komponenten hergestellt. Überall an solchen Stellen aber, an denen unversehrtes Bauchfellepithel und Peritonealzellen des Eierstockgewebes ohne gegenseitige Berührung doch in enger Nachbarschaft zusammen liegen, vor allem also an der

peripheren Verwachsungszone tritt offensichtlich das cytotaktische Bestreben dieser bezüglich ihrer Abstammung zwar gleichartigen, aber doch verschiedenen Altersstufen angehörigen Elemente in Erscheinung: Man erkennt sehr schön, wie diese Zellen Protoplasmaleib und Kern gewaltig anschwellen lassen, wie sie mit Ausläufern, oft mit vorangehendem Kern und nur durch eine spitze Plasmawurzel befestigt, frei über das benachbarte Plattenepithel hinausragen, wie dann von den beiden Teilen ganze Zellstränge ausgesandt werden, die einander entgegenwachsen und ihre Absicht, miteinander zu verschmelzen, deutlich vor Augen führen. Diese Vorgänge gleichen denen, welche Harms nach „Ovarialtransplantationen auf fremde Spezies bei Tritonen" beobachtete. Nach ihm kommen jene wirklichen Zellverbindungen auch zwischen artfremden Peritonealepithelzellen vor: nämlich denjenigen des Mesovariums und denen des darauf gepflanzten andersartigen Ovarialgewebes.

Den bisher besprochenen Versuchen habe ich noch den folgenden anzuschliessen, bei dem für die Transplantation nicht eine ganz jugendliche Geschlechtsdrüse benutzt wurde, sondern ein Hodenstückchen, welches einem noch nicht geschlechtsreifen, zwei Jahre alten Tiere entnommen war. Am 27. Oktober 1911 erfolgte die Kastration einer erwachsenen männlichen Rana fusca und die Übertragung des immaturen, ebenfalls von einem Landfrosch stammenden Hodengewebes auf das parietale Peritoneum des Kastraten. Am 26. November wurde der Versuchsfrosch getötet. Die Versuchszeit betrug also 30 Tage.

Bei der Sektion des Frosches zeigte sich das Transplantat als ein kleines, schwarz pigmentiertes Knötchen, dessen Volumen etwa 1—$1^1/_2$ cmm betrug. Es war von länglich ovaler Form und ragte, mit schmaler Basis der Bauchwandung angeheftet, frei in die Abdominalhöhle hinein. Der ganze makroskopische Befund legte die Vermutung nahe, dass die Transplantation gelungen und das Hodenparenchym in dem angewachsenen Transplantate erhalten geblieben war. In der Tat gab die mikroskopische Untersuchung dieser Annahme recht.

Auf den Serienschnitten sieht man zunächst das übertragene Keimdrüsengewebe von einer äusserst feinen, an manchen Stellen kaum sichtbaren Bindegewebshülle umschlossen. Bisweilen erkennt man auch, dass das Peritonealepithel der Bauchwand sich

noch ein Stückchen auf die Oberfläche des Transplantates fortsetzt. Eine bindegewebige Brücke führt neu entstandene Gefässe von der Bauchmuskulatur zum Hoden, welcher bereits gut vascularisiert ist. — Das Keimgewebe selbst hat nun während seines Aufenthaltes in der Bauchhöhle des erwachsenen Frosches eigentlich gar keine Veränderungen erfahren. Am Tage seiner Überpflanzung bestand es, wie der nicht transplantierte, zur Kontrolle konservierte Rest des unreifen Hodens zeigt, aus jungen Samenkanälchen, deren Lumen vollkommen von Einzel-Spermatogonien und zwischen ihnen gelegenen Follikelzellen ausgefüllt war. Spermatocyten enthaltende Cysten waren noch nicht vorhanden. Auf derselben Entwicklungsstufe steht das Transplantat 30 Tage später. Ausser Blutgefässchen ist kein anderes Granulationsgewebe in die Interstitien der Tubuli eingedrungen, sodass letztere ganz nach normalem Typus unmittelbar aneinander grenzen. Auch jetzt führen sie als einzigen Inhalt Spermatogonien und Follikelzellen. Cysten selbst aber haben sich auch jetzt noch nicht gebildet. Und wie im Vergleichspräparate hier und da eine zugrunde gehende Samenzelle auftritt, so findet sich dieselbe Erscheinung in dem übertragenen Hodengewebe. Im ganzen ist dieses jedoch durchaus gut erhalten und einzelne Mitosen, die auch in der Kontrolldrüse nur in spärlicher Anzahl zu finden sind, liefern den besten Beweis für die weitere Existenz- und Vermehrungsfähigkeit des Transplantates.[1]) Dieser Versuch hat also den Beweis erbracht, dass es wohl angängig ist, immatures Hodengewebe mit gutem Erfolge auf geschlechtsreife männliche Kastraten homoplastisch zu übertragen.

Das Gemeinsame aber, was aus dem letzten und den vorher geschilderten Versuchen hervorgeht, ist folgende Tatsache:

Unreife Froschkeimdrüsen, mögen sie nun noch den embryonalen Charakter tragen, oder bereits auf etwas älterer, durch Geschlechtsdifferenzierung ausgezeichneter Entwicklungsstufe stehen, leben in völliger Unabhängigkeit von dem erwachsenen Kastratenorganismus, auf welchen sie transplantiert worden sind, weiter. Das geschlechtsreife Alter vermag in keiner Weise den normalen Reifungsprozess der jungen Drüse zu beeinflussen, kann ihn nicht beschleunigen. — Im Gegensatz hierzu

[1]) Vgl. Fig. 6.

stehen die Reifungserscheinungen, welche in maturen Hodentransplantaten zur Beobachtung gelangen. Je weiter die normalen spermatogenetischen Vorgänge schon gediehen sind, das heisst je vorgerückter die Jahreszeit ist, zu der die Übertragung erfolgt, mit um so rascherem Tempo vollzieht sich die in dem regenerierenden Hoden neu einsetzende Spermatogenese; mit anderen Worten: die Geschwindigkeit der letzteren ist abhängig von dem jahreszeitlichen Alter des kastrierten Tieres. Diese Beeinflussung der Samenbildung tritt, wie frühere Experimente ergeben haben, beispielsweise in einem Anfang Oktober transplantierten Hodenstückchen schon nach Ablauf eines Monates, mithin innerhalb derselben Zeit, auf welche auch unsere jetzigen Versuche ausgedehnt wurden, deutlich in Erscheinung.

Zur Erklärung dieses Vorganges könnte man vielleicht die funktionelle Inanspruchnahme des Transplantates heranziehen. Bekanntlich ist die männliche Geschlechtsdrüse des Frosches durch zweierlei Arten der Funktion ausgezeichnet, nämlich die der äusseren und die der inneren Sekretion, von denen die erstere nur einmal im Jahre, zur Brunstperiode, die letztere hingegen auch während der übrigen Zeit stattfindet. Sie hat die Aufgabe, durch direkte Abgabe spezifischer Produkte ins Blut die Wirkung anderer Organfunktionen korrelativ zu beeinflussen und Ausfallserscheinungen zu verhüten; vor allem liegt ihr die Ausbildung der sekundären Geschlechtsmerkmale ob, die Entwicklung der Vorderarmmuskulatur und der Daumenschwielen, wie zuerst M. Nussbaum[1]) und nach ihm Meisenheimer[2]) durch Injektion oder Implantation von Hodensubstanz in die Lymphbahn von Batrachierkastraten nachwiesen. Dieser für den Organismus so wichtigen Funktion der inneren Sekretion geht natürlich der Frosch durch die Kastration verlustig. Bei einer Hodentransplantation aber erhält er als einzigen Ersatz für seine beiden Geschlechtsdrüsen nur ein relativ sehr kleines Stückchen Keimgewebe, von welchem zudem der grösste Teil der Zellen dem Untergang verfällt und nur die jüngsten Elemente, die wandständigen Spermatogonien, lebensfähig zu bleiben vermögen. Offenbar muss nun der Frosch, um keine schädlichen Folgen von

[1]) l. c.

[2]) Zool. Anz., Bd. 35, 1911. (Vgl. auch Steinach, E., Zentralbl. f. Physiol., Bd. 24, S. 551, 1910.)

der Exstirpation seiner Testes davonzutragen, jenes winzige, in seine Blutbahn neu eingeschaltete Geschlechtsorgan zu gewaltiger Arbeitsleistung antreiben; und es ist klar, dass diese funktionelle Inanspruchnahme des Transplantates um so stärker sein muss, je länger vor seiner Operation das Tier schon unter der Wirkung der Sekretion gestanden hat, je deutlicher deren Folgen bereits äusserlich in Erscheinung getreten sind; mit anderen Worten, je weiter die Ausbildung von Daumendrüsen und Vorderarmmuskeln schon gediehen ist. Sollen letztere nicht der Rückbildung unterliegen, sondern auf der erreichten Entwicklungsstufe beharren, so ist dies nur durch eine übermässige Funktionsleistung des übertragenen Hodengewebes zu erreichen. Dass dieses aber in der Tat zu derselben fähig ist, dass es schon in verhältnismässig kurzer Zeit die innersekretorische Tätigkeit der entfernten Geschlechtsdrüsen zu übernehmen vermag, dafür liefert unter anderem den besten Beweis jenes schon oben beispielsweise angeführte Versuchstier, welches zu Beginn des Oktobers kastriert wurde, gleichzeitig transplantierte Hodensubstanz erhielt und nach anfänglicher Rückbildung seiner Schwielen dieselben nach Verlauf relativ kurzer Zeit wieder ganz normal entwickelt hatte. Das kleine übertragene Hodenstückchen führt also wirklich unter dem Druck der notwendig werdenden Funktion eine enorme Arbeitsleistung aus. Und sie ist es daher wohl, welche den Anstoss zu der rapiden Gewebsregeneration gibt, die in der Überstürzung der Spermatogenese und der reichlichen Vermehrung der Spermatogonien ihren Ausdruck findet. Es fehlen allerdings zu einem zwingenden Beweis für diese Auffassung Versuche über Transplantation an Kastraten, deren sekundäre Geschlechtscharaktere im Laufe längerer Zeit völlig zurückgebildet sind. Man wird aber gegen die hohe Wahrscheinlichkeit dieser Auffassung keine schwerwiegenden Bedenken erheben wollen; weil ja nach unseren Versuchen zur Zeit der normalen jährlichen Rückbildung der sekundären Geschlechtscharaktere die Transplantation von Hodengewebe keinen stürmischen Charakter zeigt, weder mit bezug auf die Regeneration des Hodens, noch der äusseren Geschlechtszeichen. „Eine notwendig werdende Funktion, sofern sie in der Möglichkeit der Entwicklung liegt, beschleunigt die Entfaltung der dazu notwendigen Organe.“ So drückt sich Harms aus in seiner Arbeit: Über funktionelle Anpassung bei

Regenerationsvorgängen.[1]) Er bewies diesen Satz durch seine Versuche, welche ergaben, dass „funktionelle Inanspruchnahme eines verletzten Ruderschwanzes bei Tritonen und Kaulquappen die Regeneration etwa um das Doppelte beschleunigte, wenn Zwangsschwimmtiere mit Nichtschwimmern verglichen werden".

Es ist nicht unmöglich, dass dieselben Ursachen auch zu der beschleunigten Regeneration der auf Kastraten transplantierten reifen Hodensubstanz führen. Nur darin würde ein Unterschied bestehen, dass das regenerierende Organ hier durch Kräfte, die dem Tiere selbst innewohnen, bei den Harmsschen Versuchen aber durch äussere Ursachen zur Funktion angetrieben wird.

Bestände diese Annahme zu recht, so ist das Verhalten immaturer Keimdrüsen im Körper erwachsener Froschkastraten natürlich leicht verständlich. Sie besitzen eben noch keine Funktionen, jedenfalls nicht solche, deren der geschlechtsreife Frosch bedarf, um sich gegen Ausfallserscheinungen zu schützen. Ist ihnen überhaupt schon die Tätigkeit einer inneren Sekretion eigen, so vermag dieselbe jedenfalls nicht die Degeneration der Daumendrüsen aufzuhalten, wie unsere jetzigen Versuche ergeben haben, bei denen trotz wohlgelungener Übertragung der jungen Geschlechtsorgane die Schwielen der erwachsenen Tiere schon bei makroskopischer Betrachtung ausgesprochene Rückbildungsprozesse erkennen liessen. Ihre Unfähigkeit, die den Kastraten nötige Funktion zu leisten, gestattet daher den immaturen Keimdrüsen auch nicht die Beschleunigung ihrer Entwicklung, ihrer geschlechtlichen Reife. Vielmehr erhalten dieselben nach dem Prinzip embryonaler Transplantate im Organismus des geschlechtsreifen Frosches einfach ihre Eigenart und leben unabhängig von den veränderten Bedingungen, die sie dort umgeben, in derselben Weise wie vor ihrer Verpflanzung fort.

Im Gegensatz zu den homoplastischen sind die heteroplastischen Transplantationen unreifer Geschlechtsdrüsen auf erwachsene Frösche bisher mit negativem Ergebnisse verlaufen. Ihre Anzahl konnte indessen äusserer Umstände halber nur eine geringe sein. Dazu wurde in den meisten Fällen die Niere als neue Unterlage für das zu transplantierende Gewebe gewählt, eine Versuchsform, die wie des näheren ausgeführt wurde, schon

[1]) Harms, Über funktionelle Anpassung bei Regenerationsvorgängen. 1910. Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 132.

als solche den Erfolg der Transplantation in Frage stellen muss. Es zeigte sich, dass das übertragene Keimparenchym nach 50, 40, 30, auch schon nach 20 Tagen der Degeneration zum Opfer gefallen war und einer mehr oder weniger hochgradigen Bindegewebswucherung Platz gemacht hatte. Immer nur recht wenige Zellen waren es, die noch besser erhalten zwischen dem Granulationsgewebe anzutreffen waren. Trotz dieses Misserfolges glaube ich aus den oben angegebenen Gründen, dass bei Anstellung weiterer Versuche in geeigneterer Form auch auf dem Gebiete dieser Transplantationen noch bessere Resultate zu erwarten sein werden. Immerhin ergibt sich wohl schon jetzt so viel, dass, wie bei allen Gewebsverpflanzungen, so auch bei den Transplantierungen jugendlicher Froschkeimdrüsen auf geschlechtsreife Tiere die homoplastischen gegenüber den heteroplastischen die grösste Aussicht auf Erfolg haben.

Nachtrag.

Im Anschluss hieran sei mir gestattet, kurz einer anderen Untersuchung zu gedenken, die zur Ergänzung früherer nicht abgeschlossener Experimente angestellt wurden. Es galt die Frage zu lösen, ob Hodengewebe bei Rana mit Erfolg ausser auf Kastraten auch auf normale oder einseitig kastrierte Tiere überpflanzt werden könne; ob diese, im Besitze ihrer Keimdrüsen das Anheilen weiterer Hodensubstanz gestatteten, oder letztere als einen überflüssigen Fremdkörper zugrunde gehen liessen. Einige Transplantationen, welche zur Beantwortung dieser Frage früher ausgeführt wurden, konnten kein genügend entscheidendes Resultat liefern. Die Versuche verliefen damals negativ. In einem Falle, bei dem Esculenta-Hodengewebe in den Dorsallymphsack einer einseitig kastrierten Rana fusca männlichen Geschlechts übertragen worden war, enthielt das Transplantat nach 28 Tagen nur noch einige wenige Samenkanälchen, die noch nicht gänzlich zugrunde gegangen waren. Am Rande dieser Tubuli konnte man bisweilen noch wohlerhaltene Spermatogonien mit normaler Struktur ihres Protoplasma und ihres ruhenden Kernes hier in nur spärlicher, dort in noch etwas grösserer Anzahl beobachten. Doch war der weitaus grösste Teil des transplantierten Hodenparenchyms bereits vollständig von Granulationsgewebe ersetzt. Es machte sich also hier trotz allgemeiner Degeneration immerhin noch eine gewisse

Tendenz zur Regeneration bemerkbar, die man vielleicht schon damals als den Ausdruck dafür ansehen durfte, dass die Transplantation in jeder anderen Beziehung günstig verlief und nur durch die Anwesenheit der Keimdrüse im Abdomen des Frosches zum Scheitern gebracht wurde. Wie dem auch war, neue Versuche mussten eine bessere Entscheidung herbeiführen.

Zur Überpflanzung gelangten wiederum kleinste Hodenstückchen, welche auto-homo- oder heteroplastisch in der Bauchhöhle oder im Dorsallymphsack von Land- resp. Wasserfröschen ihre neue Unterlage fanden. Als Versuchstiere dienten sowohl Männchen wie Weibchen, welche entweder im Besitze ihrer beiden Geschlechtsdrüsen belassen oder einseitig kastriert wurden. In einem Teil der Fälle wurde den Männchen auch die gesamte Hodensubstanz bis auf einen ganz schmalen Rest der einen Seite exstirpiert.

Abgesehen von den heteroplastischen Übertragungen, deren Erfolg schon an und für sich durch stärker hindernde Momente nach der negativen Seite hin beeinflusst wird, sind auch alle übrigen hierher gehörigen Transplantationsversuche fehlgeschlagen. Offenbar muss danach also tatsächlich diese Transplantationsart ziemlich ausser dem Bereich der Möglichkeit liegen. Der Misserfolg scheint, soweit er die Hodenverpflanzungen auf normale Weibchen betrifft, zunächst in merkwürdigem Widerspruch zu dem von der Natur geschaffenen Hermaphroditismus der Anuren zu stehen. Bekannt sind ja die verschiedenen Formen der Froschzwitter. Nur soviel möchte ich hier darüber erwähnen, dass von den beiden Geschlechtsdrüsen die eine ein normaler Hoden, die andere ein normaler Eierstock sein kann, dass aber auch beiderseits sowohl Testis- wie Ovarialgewebe in normaler Entwicklung nebeneinander zur Beobachtung gelangen. Indessen liegen die Verhältnisse doch wohl etwas anderes, als sie auf den ersten Blick erscheinen. Vielleicht lässt sich die Möglichkeit der natürlichen Zwitterbildung auf die Funktionslosigkeit der immaturen Keimdrüse zurückführen. Da diese noch keine Funktion besitzt, kann sich ihre Entwicklung natürlich auch nicht unter dem Einfluss funktioneller Reize vollziehen; zu ihrer Entwicklung bedarf sie derer daher auch nicht — und zwar weder als normales Organ der Kaulquappe noch als Transplantat des erwachsenen Froschkastraten. Vielmehr ist sie bei ihrer Aus-

bildung lediglich auf eine genügende Ernährung, auf eine ausreichende Blutversorgung angewiesen. Unter solch einfachen Bedingungen können wohl beide Keimgewebsarten ohne gegenseitige Beeinträchtigung in ein und demselben Körper nebeneinander heranwachsen. Gleichzeitig treten sie dann in die Geschlechtsreife ein und beginnen damit auch gemeinsam ihre Funktionen. Werden letztere nun, einmal übernommen, in Zukunft von beiden Geschlechtsdrüsen fortgesetzt, so ist denselben auch ihre fernere Existenzmöglichkeit damit gewährleistet. Die Zwitternatur des erwachsenen Frosches bleibt bestehen.

Andere Verhältnisse aber werden durch die Transplantation reifer Hodenstückchen auf normale Weibchen geschaffen. Diese vereinigen in ihrem Organismus zum ersten Male Keimdrüsen verschiedenen Geschlechtes in bereits reifem Zustande. Ein relativ winziges Hodenstückchen, das indes zu einer erfolgreichen Weiterexistenz im Körper des neuen Trägers ausser einer guten Blutzufuhr nicht zum mindesten auch der funktionellen Betätigung bedarf, und die eigenen Ovarien. In ihnen aber besitzt das Froschweibchen ja schon länger die Organe, die seine Bedürfnisse vollauf zu befriedigen, sowohl die Funktion der äusseren, wie die der inneren Sekretion zu erfüllen vermögen. Daher wird denn auch das überpflanzte Hodengewebe funktionell wohl gar nicht in Anspruch genommen werden. Die zu seiner Erhaltung unbedingt erforderlichen funktionellen Reize stellen sich nach der Transplantation überhaupt nicht wieder ein, was gleichbedeutend ist mit seinem Tode, vor dem selbst eine ausreichende, früh beginnende Ernährung keinen genügenden Schutz gewähren kann. (In der gleichen Weise lässt sich natürlich auch der Untergang der Transplantate nicht kastrierter Froschmännchen erklären. Auch sie bleiben, zur Funktionslosigkeit verurteilt, für die Träger einfache Fremdkörper und müssen als solche zugrunde gehen.)

Interessant wäre nun nach diesen Darlegungen die Untersuchung, ob wirklich unreife Hoden mit günstigeren Resultaten als geschlechtsreife auf normale Tiere zu übertragen seien. Der positive Ausfall würde den Wert der Funktion für eine erfolgreiche Transplantation noch weiter ins Licht rücken.

Was im einzelnen die Degenerations- und Resorptions-Prozesse der überpflanzten Testikelstückchen anbetrifft, so kann

ich diesbezüglich auf früher gemachte Angaben verweisen.[1]) Hinsichtlich der Dauer der Resorptionsvorgänge kann man sagen, dass das nekrotische Zellmaterial durchschnittlich im Verlaufe eines Monats entfernt und durch mehr oder weniger Narbengewebe ersetzt war. Offenbar abhängig von der jeweiligen hier dürftigen, dort besseren Ernährung, abhängig auch von der Grösse wird immerhin das Transplantat bald früher, bald ein wenig später den regressiven Umwandlungen verfallen; und dementsprechend wird der Resorptions-Prozess schon in kürzerer oder etwas längerer Zeit beendet sein.

Die am Mesorchium einiger Tiere zurückgelassenen Hodenreste zeigten am Ende der Versuche, dass sie wieder in Regeneration begriffen waren. Bei einer Rana fusca, welche am 3. Juli operiert worden war, konnte man am Ende desselben Monates finden, dass unter Nekrotisierung aller älteren Samenfäden die Spermatogonien wieder in Teilung geraten waren. Die neubegonnene Spermatogenese hatte rapide Fortschritte gemacht und schon wieder den für die Jahreszeit normalen Stand erreicht. Die Überstürzung der Samenbildung fand offensichtlich ihren Ausdruck in einer grossen Anzahl von Mitosen in den Tubulis, die dazu nicht wie normaliter nur gleiche, sondern alle möglichen verschiedenen Stadien der Spermatogenese enthielten. Bei der Regeneration der Esculentatestikel konnte die Beschleunigung der Samenentwicklung natürlich nicht so deutlich in Erscheinung treten, da ja schon normalerweise zu jeder Jahreszeit in den Hodenkanälchen sämtliche Reifungsformen, von den jüngsten bis zu den ältesten, zur Beobachtung gelangen. Dagegen boten diese Regenerate, unter ihnen eines in besonders ausgesprochenem Maße, eine andere sehr merkwürdige Erscheinung, nämlich die der Ausbildung junger Eier innerhalb der Hodenschläuche. Sie nötigt mich, hierzu noch einige Bemerkungen zu machen als

Beitrag zur Kenntnis des Hermaphroditismus bei Fröschen.

Bekanntlich hat man beim Hermaphroditismus des Frosches zwischen den jugendlichen und dem der erwachsenen Tiere zu unterscheiden. Der erstere, von Pflüger[2]) entdeckt, ist der

[1]) l. c.

[2]) Pflügers Arch., Bd. 29, S. 13, 1882.

bei weitem häufigere und findet sich (bei Rana fusca) im allgemeinen nur in der Art, dass Hoden- und Eierstockgewebe nebeneinander die Keimdrüse erfüllen. Im späteren Alter wird dann meistens eines der beiden Keimdrüsengewebe zurückgebildet, sodass entweder Männchen oder Weibchen entstehen. Andernfalls besteht der Hermaphroditismus in derselben Weise noch beim geschlechtsreifen Tiere fort. Dabei können nun in ausgesprochenen Fällen von Hermaphroditismus die die Keimdrüse zusammensetzenden verschieden geschlechtlichen Komponenten zwei voneinander getrennte, völlig in sich abgeschlossene Gewebskomplexe sein. Vor einiger Zeit beobachtete ich einen solchen erwachsenen Zwitter, dessen Geschlechtsdrüsen beiderseits zum Teil aus reifem Testikel, zum Teil aus befruchtungsfähigem Ovarium gebildet waren. — In anderen Fällen aber kann die männliche Komponente überwiegen, sodass dann nur einzelne Eier zwischen den Samenschläuchen, also intertubulär anzutreffen sind. Einen merkwürdigen Eindruck machen die Serienschnitte von einem Hoden, welcher einem Landfrosch am 3. April exstirpiert wurde. An einer Stelle der Keimdrüse ist nämlich zwischen den Tubuli eine ziemlich grosse Höhlung vorhanden, welche in ihrem Inneren ein junges Ei von nicht unbeträchtlichem Umfange birgt.

Eine sehr seltene Erscheinung ferner, welche meines Wissens bisher nur von Born[1]) mitgeteilt wurde, ist die, dass junge Eier im sonst normalen Testis von Rana auch innerhalb der Tubuli zur Entwicklung gelangen. Auch ich habe in einem jugendlichen Froschhoden intratubulär gelegene Eizellen, allerdings im Degenerationszustande beobachten können. Ausser bei den Batrachiern scheinen auch bei anderen Amphibien bisweilen in gleicher Weise weibliche Geschlechtszellen in unmittelbarer Nachbarschaft der männlichen vorzukommen. Wenigstens trifft dies für ein von Herrn Geheimrat M. Nussbaum mir liebenswürdiger Weise überlassenes Präparat zu. Es handelt sich hier um einen Salamanderhoden, in dessen einer Ampulle inmitten der Samenelemente einige Zellen liegen, die durch die Grösse und ihren körnigen Dotter unverkennbar den Eindruck junger Eier machen.

Kommen also im Testikel von Amphibien schon Eier direkt neben Samenzellen vor, so erreichen sie doch wohl niemals eine bedeutendere Grösse, sondern gehen in ihren ersten Entwicklungs-

[1]) Cit. nach Gaupp, Anatomie des Frosches.

stadien bereits wieder zugrunde. Im übrigen gilt für die Wirbeltiere die gemeinsame Regel, dass in ihren Keimdrüsen verschiedengeschlechtliche Zellen dicht nebeneinander überhaupt nicht auftreten. Von den wirbellosen Tieren aber zeigen jene Erscheinung unter den Mollusken nur die Lamellibranchiaten und speziell die Gastropoden, „bei denen unter den Pulmonaten, Opistobranchiern und Pteropoden diese Erscheinung die Regel ist und infolgedessen eine sogenannte Zwitterdrüse zur Ausbildung gelangt. In dieser werden dicht nebeneinander Eier und Spermatozoen erzeugt. Die Zwitterdrüse der Gastropoden stellt ein gelapptes Organ dar, dessen Hohlraum von den heranreifenden Eiern und Spermatozoen dicht erfüllt ist.“ [1])

Immerhin gehört die intratubuläre Lage weiblicher Geschlechtszellen im sonst normalen Hoden bei den Amphibien wohl zu den seltensten Fällen. Um so auffälliger muss daher die Tatsache erscheinen, dass bei Anuren in Hoden-Regeneraten und -Transplantaten innerhalb der Tubuli junge Eier fast regelmässig zur Ausbildung kommen. In den meisten Testikelstückchen nämlich von Rana fusca und Rana esculenta, welche auto- oder heteroplastisch transplantiert worden waren, ferner in kleinen am Mesorchium zurückgelassenen Hodenresten entwickelten sich bei der Regeneration innerhalb der Samenkanälchen typische junge Eier. Die Anzahl der letzteren in den verschiedenen Präparaten war eine wechselnde. Relativ am meisten konnte ich in den einfachen Regeneraten finden, deren Schläuche auf den Durchschnitten bald eine, bald zwei, drei und mehr Eizellen aufwiesen.

Letztere zeichnen sich vor den männlichen Keimzellen durch ihren Grössenumfang aus, sodann besonders auch durch die Struktur ihres dunkelkörnigen Dotters, der sich durch eine markant gezeichnete Kernmembran von dem hellen Keimbläschen abhebt.[2]) Der Erhaltungszustand der Eier scheint in Abhängigkeit von ihrer Lage innerhalb der Tubuli zu stehen. Die der äussersten Peripherie anliegenden Zellen sind stets gut erhalten und weisen niemals nekrotische Veränderungen auf. Ebenso verhält es sich

[1]) Korschelt und Heider, Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der wirbellosen Tiere. Allgemeiner Teil. S. 367. Ei und Eibildung.

[2]) Vgl. Fig. 7, auch Fig. 5 und 6 meiner Arbeit: „Über Froschhodentransplantation“.

mit denjenigen Eiern, welche schon weiter in das Lumen der Samenkanälchen gewandert sind, mit deren Wandung aber noch durch eine Brücke von Follikelzellen verbunden werden. Ist jedoch diese, die vielleicht in der Ernährung des jungen Eies eine Rolle spielen mag, einmal unterbrochen, was dadurch geschieht, dass die Eizellen noch weiter in das Zentrum hineinrücken und ihre Follikelzellen nach sich ziehen — also nunmehr isoliert im Innern der Hodenschläuche liegen, so verfallen sie der Degeneration.

Der bei weitem grösste Teil der Eier ist zwischen den Spermatogonien oder Samencysten gelegen und wird von einzelnen Follikelzellen bekleidet. In geringer Zahl aber finden sich Eizellen sogar auch innerhalb der Cystenhäutchen: sie besitzen natürlich kein eigenes Follikelepithel. Diese Fälle betreffen bestimmt das Hodenregenerat einer Rana fusca, welche am 24. Oktober 1908 bis auf ein etwa 1—1½ cmm grosses Keimdrüsenstückchen, das am rechten Mesorchium zurückgelassen wurde, kastriert und am 28. Januar 1909 getötet wurde. (Versuchsdauer 96 Tage.) Ausser sehr vielen extracystär gelegenen Eiern finden sich einzelne auch innerhalb von Cysten, welche im übrigen Spermatogonien enthalten.[1]) — Auch in einem anderen Hodenregenerate, welches einer Rana esculenta entstammte und ein Alter von 38 Tagen erreichte (25. Juli 1911 bis 1. September 1911), sind höchstwahrscheinlich in Spermatocytencysten Eizellen vorhanden. Die nicht ganz günstig getroffenen Schnitte gestatten es jedoch nicht, ein absolut sicheres Urteil über die Lage der Eier abzugeben.

Es ist notwendig, zu betonen, dass in den exstirpierten Hoden, welchen die Regenerate einst angehört hatten, Eier in keiner Weise nachweisbar waren. Dieselben können sich infolgedessen erst nach der Operation in den Samenkanälchen neu entwickelt haben. Hinsichtlich der Ausbildung der extracystären Eizellen wäre es denkbar, dass die Samenschläuche normalerweise Eianlagen enthielten, welche indes mangels charakteristischer Wachstumserscheinungen sich von Spermatogonien nicht unterscheiden liessen und in dem geschlossenen Zellverband der männlichen Keimdrüse keine Weiterentwicklung erführen, dass letztere jedoch infolge der veränderten Wachstumsbedingungen bei Regene-

[1]) Vgl. Fig. 8.

raten und Transplantaten sich bemerkbar machte. — Sodann können die Eier auch infolge einer Rückbildung der Spermatogonien durch den Regenerationsprozess aus indifferenten Zellen, eben aus Ursamenzellen auf metaplastischem Wege entstanden sein. — Dass ferner sogenannte Ursamenzellen im normalen Hoden vielleicht ihren Namen noch nicht mit Recht trügen: dass wenigstens ein Teil von ihnen noch frei sei von spezifischen Eigenschaften, die für gewöhnlich zwar später zu männlichen, in kleinen regenerierenden Hodenstückchen aber auf Grund veränderter Teilungsenergie der Zellen zu weiblichen sich entwickelten, wäre gleichfalls nicht unmöglich. — Die intracystär auftretenden Eier können selbstverständlich nur von indifferenten Zellen abstammen. Ihr Vorkommen beweist die interessante Tatsache, dass die sogenannten Spermatogonien, welche einzeln die Wand der Samenkanälchen bekleiden, unter dem Einfluss gewisser ursächlicher Momente, wie sie beispielsweise die Regeneration mit sich bringt, nicht nur selbst eines spezifischen Geschlechtscharakters entbehren, sondern ihren indifferenten Zustand auch auf ihre Nachkommen, die in Cysten ruhenden Zellen noch vererben können.

Zusammenfassung:

1. Die Transplantation indifferenter und differenzierter Keimdrüsen von jungen Fröschen auf erwachsene Tiere derselben Art ist mit Erfolg ausführbar. Dabei ist es möglich, auf Männchen nicht nur Hoden-, sondern auch Ovarialgewebe zu übertragen. Die jugendliche Geschlechtsdrüse setzt im Körper des erwachsenen Frosches ihre normale Entwicklung fort.
2. Die Transplantation geschlechtsreifer Froschhodensubstanz auf nicht kastrierte Tiere ist erfolglos.
3. Die Regeneration kleiner Froschhodenstückchen lässt intratubulär nicht nur ausserhalb, sondern auch innerhalb der Samencysten junge Eier zur Entwicklung gelangen.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel VIII.

Allgemeine Bezeichnungen:

K. = Keimdrüse.
Kz. = Keimzellen.
N. = Niere.
Gz. = Ganglienzellen.
Dtk. = Dotterkern.
E. = Eizelle.
E. i. Dg. = Ei in Degeneration.
E. i. M. = Ei in Mitose.
Sp. = Spermatogonien, Spermatocyten.
Cz. = Cysten-Follikelzelle.
Bg. = Bindegewebe.

Fig. 1. Die transplantierte Keimdrüse einer Esculentalarve in Verbindung mit dem paranephritischen Gewebe eines erwachsenen Rana esculenta ♂. In der Mitte gelegen: Nierengewebe, unterhalb desselben: die Keimdrüse, oberhalb desselben: Ganglienzellen. Vergrösserung: Leitz, Oc. 4, Obj. 3.

Fig. 2. Durchschnitt durch dieselbe Geschlechtsdrüse bei starker Vergrösserung. Indifferente Geschlechtszellen. In der Mitte eine Mitose. Leitz, Oc. 4, Obj. 7.

Fig. 3. Eizellen aus dem Ovarium eines jungen Landfrosches kurz nach der Metamorphose. Leitz, Oc. 4, Obj. 3.

Fig. 4. Eizellen aus demselben Ovarium, 46 Tage nach ihrer Transplantation auf das parietale Peritoneum eines erwachsenen Rana fusca ♂. Leitz, Oc. 4, Obj. 3.

Fig. 5. Dasselbe Transplantat bei starker Vergrösserung. Aussen: in Degeneration befindliche grosse Eier. In der Mitte: eine in Vermehrung begriffene junge Eizelle. Leitz, Oc. 4, Obj. 7.

Fig. 6. Abschnitt aus dem Samenkanälchen eines unreifen Hodenstückchens von Rana fusca, welches auf das parietale Peritoneum eines erwachsenen Rana fusca ♂ transplantiert wurde, 30 Tage nach der Überpflanzung: Spermatogonien, unter ihnen eine in Mitose, und Cystenzellen. Leitz, Oc. 4, Obj. 7.

Fig. 7. Eizelle innerhalb eines Hodenkanälchens von Rana esculenta, welches heteroplastisch auf ein Rana fusca ♂ transplantiert wurde. Um die Eizelle herum liegen Spermatogonien.

Fig. 8. Intracystär zwischen Spermatogonien liegende Eizelle aus dem Regenerat eines Fuscahodens, 96 Tage nach der Operation.

Literarisch-kritische Rundschau.

Goldschmidt, R.: Einführung in die Vererbungswissenschaft. In zwanzig Vorlesungen für Studierende, Ärzte, Züchter. Mit 161 Abbildungen. Leipzig, Engelmann, 1911, IX und 502 Seiten.

Punnett, R. C.: Mendelism. Third Edition. Macmillan and Co., London, 1911, XIII und 176 Seiten. 6 Tafeln und 35 Abbildungen.

Castle, William E.: Heredity in relation to evolution and animal breeding. New York and London, D. Appleton and Co., 1911, XII und 184 Seiten, 53 Abbildungen.

In der reichen Fülle der Vererbungsliteratur des Jahres 1911 tritt besonders die Neigung hervor, die im Laufe des ersten Jahrzehntes einer erneuerten Erblichkeitslehre geernteten Erkenntnisse planmässig zusammenzufassen und in der Form von Lehrbüchern einem weiteren Kreise von Wissenschaftlern und Praktikern zugänglich zu machen. Beherrschten bis zum Jahre 1910 fast ausschliesslich Johannsens und Batesons mustergültige Darstellungen der modernen Vererbungswissenschaft fast allein das Feld, so schliessen sich an die (bereits früher hier angezeigten, siehe Bd. 77 H. 3) Lehrbücher von Baur und Haecker nunmehr noch ein grösseres deutsches und zwei kleinere englische Zusammenfassungen an.

Goldschmidts umfangreiches Vorlesungswerk erhält sein eigenartiges Gepräge durch die ausgiebige Heranziehung auch älterer Erfahrungen auf dem Gebiete der Erbwissenschaft. Standen weiterhin die Bücher sowohl von Haecker wie von Baur in merklichem Maße unter dem Banne der eigenen Forschungsrichtung der Verfasser, so widmet Goldschmidt ganz gleichmässig allen Einzelproblemen seine Aufmerksamkeit und nur hier und da treten einmal die persönlichen Erfahrungen und Überzeugungen des Autors etwas mehr in den Vordergrund.

Nachdem in der Einleitung die Grundlagen der Erbcytologie eine ganz kurze Darstellung gefunden haben — im Rahmen der Bastardlehre werden die übrigen cellulären Tatsachen und Folgerungen späterhin abgehandelt —, erläutert Goldschmidt zunächst in zwei umfänglichen Hauptteilen die Variabilität und die Mutation. Hier kommen auch eigene Studien des Verfassers zur Geltung, die sich vorzugsweise auf Lepidopteren beziehen. Besondere Sorgfalt erfahren die Untersuchungen von Johannsen, sowie die Oenothera- und Leptinotarsa-Versuche, die für den augenblicklichen Stand der Lehre von der Mutation massgeblich sind.

Das folgende Kapitel gehört dem Problem der Vererbung erworbener Eigenschaften. Goldschmidt steht nicht auf dem radikalen Standpunkte, wie ihn in letzter Zeit besonders Baur vertreten hat, dass es schlechthin keine erbliche Übertragung der erworbenen Eigenschaften in dem gewöhnlichen nicht ganz klar definierten Sinne gäbe. Modifikationen sind nicht erblich, lautet der Kernpunkt dieser scharfen Zergliederung allen in Betracht kommenden Geschehens. Für Goldschmidt bestehen Brücken zwischen

Lebenslagevariationen einerseits und Mutationen anderseits; extreme Reize zur richtigen Zeit einwirkend können auf die Erblichkeit von erheblichem Einflusse sein.

Die Bastardbildung als Erbforschungsmittel bildet den Inhalt des nächstfolgenden Hauptteiles. Hier werden die Mendelphänomene in aller Ausführlichkeit behandelt, und im Anschlusse die Biologie der Mischlinge, die vegetative Bastardbildung und die cellulären Grundlagen der Bastardlarve dargestellt. Die Gesamtheit der Lehrbeispiele und der Darlegungen schliesst sich im allgemeinen an die heute schon infolge ihrer inneren logischen Zusammenhänge traditionell gewordene Behandlungsart an. Wenn an einer Stelle hier für eine künftige Auflage etwas zu bessern wäre, so möchte man der Darstellung der menschlichen Erblichkeit einen etwas breiteren Raum wünschen, auf den sie von Jahr zu Jahr auch wachsenden Anspruch sich verdienen wird.

Der Schlussabschnitt des Buches ist dem Problem der Geschlechtsbestimmung vorbehalten. Die physiologische und die morphologische Seite der Erscheinungen werden nach Tatsachenmaterial und Deutung sehr übersichtlich und klar abgehandelt. Auch hier treten besonders beim Gynandromorphismus und seiner Vererbungsweise eigene Erfahrungen des Verfassers, die noch nicht ausführlich veröffentlicht sind, zutage.

Goldschmidts Buch wird sich vor allem den Lesern empfehlen, die sachliche und gleichmässige Belehrung über das Gesamtgebiet der Erblichkeitslehre wünschen, dem noch ganz Unerfahrenen wird es eine sehr brauchbare Einführung, aber auch dem Forscher ein handliches Hilfsmittel zum Nachschlagen und Einordnen neuer Erfahrungen sein.

Die beiden englischen Vererbungsbücher zielen nicht dahin, in umfangreicher Darstellung den Gesamtinhalt der Erbwissenschaft, wenn auch nur in seinen Grundlagen, abzuhandeln. Punnetts „Mendelism“ zeigt schon in der Wahl des Titels die Beschränkung auf die spezielle moderne Erbphysiologie. Trotzdem ist aus dem kleineren Taschenbuch der ersten Auflage ein weit eingehenderes richtiges Lehrbuch der mendelistischen Erberscheinungen geworden mit bunten Tafeln und einer grossen Anzahl von Textabbildungen.

In der Einleitung formuliert Punnett das Problem der Unterschiedlichkeit der Erbzellen und stellt dann historisch die Arbeit von Gregor Mendel dar. Die Erläuterung der „Anwesenheits- und Abwesenheitshypothese“ schliesst sich in der Reihe der Kapitel an. Das Verhalten der Faktoren zueinander — ihr Zusammentreten und die Produktion der neuen Formen, von Rückschlägen, die Art ihrer Vereinigung in derselben Zygote und die Erscheinungen der „Dominanz“ bilden den Inhalt der nächsten Abschnitte. Das Eingreifen der Domestikation, die Kopplung der Faktoren in den Gameten bringen den allgemeinen Teil der Mendellehre zum Abschluss.

Ein breiter Raum ist den Erscheinungen der Geschlechtsbestimmung gewidmet. Die Erkenntnisse des Erblichkeitsforschung für Evolutions- und Variationslehre, für die züchterische Praxis werden behandelt und die Erblichkeitserscheinungen beim Menschen nehmen das Schlusskapitel ein.

Punnett stellt sich, wie Bateson, und wie in Deutschland am ausgesprochensten Baur auf den klassisch-medelistischen Standpunkt; seine

zahlreichen eigenen Arbeiten, die überall für Lieferung der Beispiele mit herangezogen werden, weisen streng auf diese Stellungnahme hin.

In etwa dem gleichen Umfange stellt Castle die Erblichkeitslehre dar. Auch er gründet die neue Wissenschaft „Genetik" auf die Dualität der „einfachen" zeugenden Keimplasmen (Kap. I) und deren relative Unabhängigkeit vom Körper (Kap. II). Mendels Regel ist der Ausdruck für die Selbständigkeit der Einzelfaktoren im Gameten und der Zygote. Aus ihr lassen sich die zahlenmässigen Ergebnisse bei Dominanz, und die atavistischen Rekonstruktionen, die Störungen bei Lebensunfähigkeit einer Gametenkombination erklären (Kap. III, IV). Bei der Neuerzeugung von Rassen, in der Evolution spielen Verlust oder Modifikation mendelnder Erbeinheiten die Hauptrolle (Kap. V). Aber auch der Selektion bleibt bei Castle ein weiter Machtbereich: nicht, wie auch bei den radikalen Mendelisten nur zur Auslese der Einheit-Kombinationen, sondern auch nach der Potenz der Charaktere bleibt der Selektion ein Spielraum (Kap. VI und VII). Castle schliesst sich nicht ganz unbedingt an Johannsens und Jennings radikale Auffassungen an, sondern neigt mehr zu einer älteren darwinistischen Deutung der Selektionsvorgänge und ihrer Materialien. Den nicht unmittelbar spaltenden Erberscheinungen, dem Prinzip der multiplen Gene (Kap. VIII), der Inzucht (Kap. IX) und der Vererbung des Geschlechtes sind die abschliessenden Abschnitte gewidmet.

Punnetts und Castles Bücher bilden eine besonders für den deutschen Leser erwünschte Ergänzung unserer grossen und umfangreichen Erb-Lehrwerke. Zur schnellen Übersicht über die einschlägigen Hypothesen und Versuche, als kurze Einführungen in das Gebiet der Erblichkeitslehre verdienen sie einen grossen Leserkreis.

An Lehrbüchern besteht, wie diese Literaturberichte zeigen, kein Mangel, die Flut der Arbeiten auf dem Gebiete der Erbphysiologie und Erbcytologie schwillt fast unter unseren Augen zu immer grösseren Massen heran: sollte es nicht an der Zeit sein, in Form eines umfangreichen Handbuches diese Summe der Erfahrungen zusammenzufassen und die Materialien wie in der chemischen Literatur sachgemäss zu ordnen, damit der Überblick über die uferlose Produktion erleichtert werde, und anderseits die Lücken besser hervortreten, die dieser jüngste Zweig der Biologie noch auszufüllen hat?

Poll-Berlin.

Aus dem biologischen Laboratorium der Universität Bonn.

Der Hermaphroditismus bei Fröschen.

Von

Davenport Hooker.

Hierzu Tafel IX und 1 Textfigur.

Einleitung.

Es gibt 25 beschriebene Fälle von abnormen Geschlechtsorganen bei Fröschen. Unzugänglich waren mir die Berichte von Kortschagin, Pedaschenko und Tarnani; doch gibt Ognew Notizen über ihre Beschreibungen. Es ist bedauerlich, dass die Angaben Ognews über andere Fälle nicht vollständig mit den in den Originalen berichteten Tatsachen übereinstimmen, so dass vielleicht auch die mir selbst nicht bekannten Fälle von Ognew nicht genau genug wiedergegeben sind. Mitrophanows Abhandlung war mir ebenfalls im Original nicht zugänglich; doch findet sich ein kurzer Auszug desselben auf S. 98, Bd. 17, des Zoologischen Anzeigers von 1894.

Die vorliegende Abhandlung ist zu betrachten als ein Vorbericht zu Versuchen, welche von mir im hiesigen Laboratorium über innere Sekretion angestellt werden; sie gibt zugleich eine Beschreibung zweier neuen Fälle von Hermaphroditismus, von denen die eine die vollendetste Form des Hermaphroditismus verus bilateralis darstellt.

Bevor wir die Besprechung der bis jetzt in der Literatur beschriebenen Fälle von Hermaphroditismus bei Fröschen durchgehen, wird es der Einfachheit halber sich empfehlen, die von mir beobachteten Fälle zu beschreiben.

Fall A, zur Gruppe des Hermaphroditismus spurius bilateralis gehörig.

Das Tier, eine Rana fusca, am 4. April 1906 getötet und seitdem in 70% Alkohol aufbewahrt, ist erwachsen, misst 7.3 cm von der Schnauzenspitze bis zum After und ist, nach seinen äusseren Merkmalen, zweifellos ein Männchen um die Zeit der

Brunst. Die Vorderarme sind mächtig entwickelt, die Daumenschwielen gross und tiefschwarz gefärbt. Untersucht man den Harn-Geschlechts-Apparat, so fällt vor allem das Fehlen des linken Hodens und die Gegenwart von Müllerschen Gängen auf beiden Seiten auf. Im übrigen sind die Geschlechtsorgane die eines normalen Männchens: nur ist der rechte Hoden leicht vergrössert. Die Samenblasen sind nicht so gross wie gewöhnlich bei den Männchen dieser Spezies um diese Jahreszeit: aber sie sind normal und haben den Typus der Spezies. Die Müllerschen Gänge sind dünn und nur leicht gewunden: ihr oraler Trichter liegt an der normalen Stelle in der Gegend der Leber, und ihr anales Ende ist in einen schmalen Uterus verbreitert. Wolffsche und Müllersche Gänge enden in der Kloake mit gesonderten Endungen wie bei normalen Weibchen.

Fall B, zur Gruppe des Hermaphroditismus verus bilateralis gehörig.

Diese Rana fusca wurde im Oktober 1911 im Freien gefangen und sollte von Herrn Meyns zu einem Versuch über Transplantation benutzt werden. Erstaunt über die abnorme Beschaffenheit der Geschlechtsorgane, aber nicht in der Lage sie weiter zu untersuchen, überliess er mir freundlichst das Objekt, das hier beschrieben wird. Es ist dies ein wohl entwickeltes, 8 cm langes, erwachsenes Exemplar in mässig gutem Ernährungszustand. Die sekundären Geschlechtscharaktere sind die eines Männchens und Weibchens zugleich. Es hat mittelstarke Vorderarme, Daumenschwielen und zugleich eine warzige Beschaffenheit der Rückenhaut. Die normalen Männchen aller Frösche Deutschlands haben während des Herbstes bis zum Beginn des Frühjahrs besonders ausgebildete Hautdrüsen und Warzenhaufen, „die Daumenschwielen" als äussere, sekundäre Geschlechtscharaktere. Bei Rana fusca werden die Daumenschwielen aus vier scharf abgesetzten Teilen gebildet, von denen zwei auf dem Metacarpus und je einer auf den Phalangen sitzen. Bei diesem Hermaphroditen weichen die Daumenschwielen vom normalen Typus der Rana fusca ab, und die letzte Phalanx trägt keine Spur der veränderten Haut (Fig. 1, S. 183), auch sind die drei vorhandenen Abschnitte weit deutlicher abgesetzt, als es sonst im Oktober der Fall ist. Nichtsdestoweniger macht der Besitz von Daumenschwielen, auch wenn

sie geringer ausgebildet sind, das Tier zu einem Männchen, da normale Weibchen keine Daumenschwielen besitzen. Unser Exemplar hat auch die für das Männchen charakteristische Vergrösserung der Brunstmuskeln, die beim Weibchen nicht auftritt.

Das auffallendste Geschlechtszeichen weiblicher Frösche vor dem Beginnen der Laichperiode sind die warzenartigen Ver-

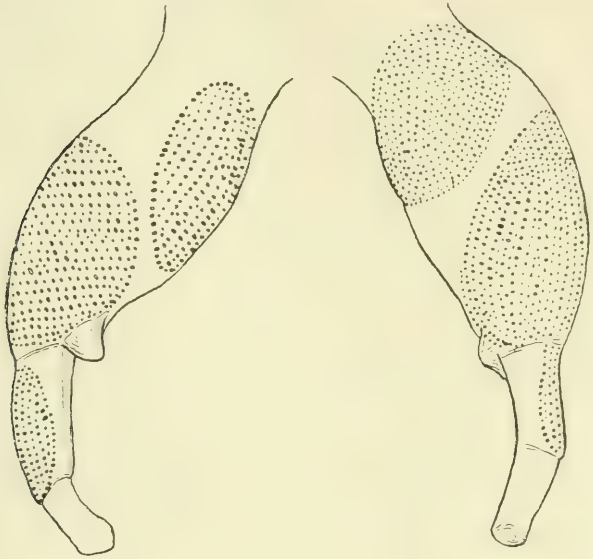


Fig. 1.

dickungen auf dem Rücken und den Seiten des Rumpfes und der Beine. Da der beschriebene Frosch dieses normale weibliche Zeichen trägt, so müsste man ihn auch als ein Weibchen bezeichnen.

Bei der inneren Untersuchung dieses Hermaphroditen fand sich auf beiden Seiten ein wohlentwickelter Hodeneierstock, stark geschwollene Eileiter und kleine Samenblasen. Fig. 1 der Taf. IX zeigt, halbschematisch, die Beschaffenheit des Harn-Geschlechtsapparates. Der linke Hodeneierstock wurde noch besonders untersucht und stärker vergrössert auf Taf. IX, Fig. 2 abgebildet.

Der Hodeneierstock der rechten Seite besteht vorwiegend aus Hodensubstanz. Der Hodenteil ist etwas breiter als normal und misst in der Länge 12,5 mm, in der Breite 6—9,5 mm und in der Dicke 5 mm. Seine Form ist plump, die Oberfläche glatt und von einer leicht gelblichen Farbe. Dieser Hoden ist innen

von einer sehr zarten, schwer sichtbaren, schwärzlichen Haut der Länge nach in zwei Teile geteilt. Die trennende, schleierartige, schwarze Haut ist eine Fortsetzung des Eierstockes, der an der äusseren Kante des Hodens fast der ganzen Länge nach befestigt ist und anal über ihn frei hinausragt. Er ist 19 mm lang und hat, wo er den Hoden überragt, allseitig einen Durchmesser von 6,5 mm. Er enthält eine grosse Zahl junger, unentwickelter, farbloser Eier, einige Übergangsstadien, wenige völlig reife und zahlreiche tiefschwarz gefärbte, verkleinerte, degenerierte Eier.

Der Hodeneierstock der linken Seite enthält nur wenig Hodensubstanz im Vergleich zum Eierstocksgewebe, wenn auch der Hoden ungefähr die Grösse eines normalen aufweist. Er ist mehr oder weniger in das Parenchym des Eierstockes eingebettet und misst an der ventralen Oberfläche in der Länge 5 mm, in der Breite 3,5 mm; an der dorsalen Oberfläche in der Länge 7,5 mm, in der Breite 5 mm und ist 4,5 mm dick. Der Hoden ist von derselben Beschaffenheit mit Bezug auf Farbe und Widerstand wie der der rechten Seite. Das Ovarialgewebe ist am kranialen, lateralen und analen Rande des Hodens befestigt, von normaler Gestalt, in sechs Säcke eingeteilt. Es enthält viele junge Eier, eine grosse Zahl reifer, völlig entwickelter und eine noch grössere von degenerierten, auf der ganzen Oberfläche schwarz gefärbten Eiern, während die normalen reifen Eier eine leicht gebräunte und eine weisse Halbkugel besitzen.

Die Samenblasen der Rana fusca können als solche das ganze Jahr hindurch erkannt werden, wenn sie auch, wie das H. Gerhartz (1905b) zuerst beschrieben hat, in ihrer Grösse zu verschiedenen Jahreszeiten beträchtlichen Schwankungen unterliegen. Die Abhängigkeit dieser Schwankungen von der inneren Sekretion des Hodens hat zuerst M. Nussbaum (1905a) nachgewiesen. Bei Rana esculenta kann man die als Samenblase anzusprechende Stelle des Wolffschen Ganges nur um die Brunstzeit erkennen, wo sie leicht anschwillt und sich erweitert. Diesem Hermaphroditen von Rana fusca fehlen die den normalen Männchen zukommenden und aus dem Wolffschen Gange entspringenden Kanäle; daher nähern sie sich dem normalen Typus der Samenblasen des Wasserfrosches. Sie sind einfache, spindelförmige Erweiterungen des Urnierenganges. Nur eine kleine Andeutung

einer sackartigen Ausbuchtung am kranialen Ende der linken Samenblase könnte daran erinnern, dass wir hier es mit Rana fusca zu tun haben.

Die Eileiter sind weiss und haben stark geschwollene Drüsen. Die Windungen sind reichlich; gegen die Kloake zu gehen sie jederseits in einen dünnen, geräumigen Uterus über. Wolffscher Gang und Eileiter münden auf jeder Seite gesondert in die Kloake, wie bei normalen Weibchen. Es ist zu bedauern, dass nicht von vornherein das Peritonealepithel auf die Anwesenheit von Flimmerzellen untersucht wurde. Am konservierten Präparat ist mir der Nachweis von Flimmerzellen nicht gelungen: das will aber in Anbetracht der bei der Konservierung nicht stark genug gewählten Konzentration des Formols nichts besagen, denn auch die Eileiter waren über Nacht gequollen und zum Teil geplatzt.

Was die Fettkörper anlangt, so waren sie schwach entwickelt. Danach scheint es, als ob das Tier in der letzten Zeit seines Lebens kein reichliches Futter gefunden hätte, wenn auch sein Ernährungszustand, wie oben angegeben, bei äusserer Betrachtung nicht gerade auf langdauernden Hunger schliessen liess. Auch die grosse Zahl degenerierter Eier spricht, wie dies Nussbaum und Burkardt zeigten, für den Einfluss des Hungers.

Der linke Hodeneierstock wurde besonders gehärtet und ein kleiner Teil mikrotomiert, gefärbt und mikroskopisch auf seinen Entwicklungsgrad untersucht. Das Hodengewebe war durchaus normal und enthielt der Jahreszeit entsprechend alle Stadien der Spermatogenese von den Spermatogonien bis zu den völlig entwickelten Samenfäden. Eizellen wurden im Hoden nicht gefunden. Der rechte Hoden wurde nicht besonders untersucht, in der Annahme, dass auch er normal sei.

Hermaphroditismus bei Ranidae.

In der beifolgenden Tabelle sind, mit Einschluss der oben beschriebenen beiden Frösche, im ganzen 23 Fälle von Hermaphroditismus zusammengestellt. Nicht aufgenommen wurden die Fälle von Kortschagin, Pedaschenko, Fall E von Marshall und der zweite Fall von Sumner. Als Grund für diese Ausschliessung galt mir entweder die Unvollständigkeit der Angaben oder die Zugehörigkeit der betreffenden Tiere zu anderen Abnormitäten als den durch Hermaphroditismus bedingten.

Die verzeichneten Fälle sind in fünf Gruppen geordnet, entsprechend dem Charakter der vorgefundenen Geschlechtsdrüsen und ihrer Adnexe:

Gruppe A. Männchen mit mehr oder weniger ausgebildeten Müllerschen Gängen (Eileiter).

Gruppe B. Männchen, deren Hoden Eier enthalten.

Gruppe C. Hermaphroditen mit beiderlei Geschlechtsdrüsen, bei denen aber die männlichen vorwiegen.

Gruppe D. Vollständige oder beinahe vollständige Hermaphroditen.

Gruppe E. Hermaphroditen mit beiderlei Geschlechtsdrüsen, bei denen aber die weiblichen vorwiegen.

Einer der interessantesten Punkte, den die Tabelle zeigt, ist das gewaltige Überwiegen derjenigen Hermaphroditen, welche ihren Geschlechtsorganen nach vorwiegend Männchen sind. Über 78 Prozent der aufgeführten Fälle haben in erster Linie männlichen Charakter; mehr als 13 Prozent sind vollständige oder beinahe vollständige Hermaphroditen; während wenig über 8 Prozent der Hauptsache nach Weibchen sind. Diese Tatsache ist von einigen Autoren schon hervorgehoben worden. Freilich ist die Zahl der beobachteten und beschriebenen Fälle sehr gering, so dass ein wirklich statistischer Wert der Aufstellung dieser Prozentzahlen nicht beigemessen werden kann; sie sollen auch nur Aufschluss über das Verhältnis der beobachteten und nicht über das der in der Natur vorkommenden Fälle geben.

Geschlechtsdrüsen und ihre Anhänge.

Hermaphroditismus verus findet sich bei höheren Tieren, speziell den Wirbeltieren, nur bis zur Klasse der Fische, kommt aber auch gelegentlich anderweitig vor. Nach den Untersuchungen von Born, Pflüger, Schmitt-Marcel und Kuschakewitsch sind eine grosse Zahl von Hermaphroditen Übergangsstadien von weibchenähnlichen Fröschen zum männlichen Geschlecht. Die dahingehörigen Fälle bilden eine Varietät sowohl des Hermaphroditismus verus als spurius, die wir „Übergangshermaphroditismus" nennen wollen.

Übergangshermaphroditen.

Als Born (1881), um den Gesetzen der Entstehung des Geschlechtes nachzugehen, Kaulquappen aus künstlich befruchteten

Tabelle der in der Literatur beschriebenen hermaphroditischen Frösche.

Gruppe	Nummer	Fall	Spezies von Rana	Alter	Äussere männliche Charaktere	Äussere weibliche Charaktere	Rechte Körperseite					Linke Körperseite				
							Hoden	Samenblase	Eierstock	Eileiter	Lage des Eierstocks zum Hoden	Hoden	Samenblase	Eierstock	Eileiter	Lage des Eierstocks zum Hoden
A	1	Tichomirow[1] 1887	esculenta	Unbekannt	♂ Unbekannt	Unbekannt	Normal	Vorhanden	Fehlt	Mässig entwickelt	—	Normal	Vorhanden	Fehlt	Vorhanden	—
	2	Gerhartz 1905	esculenta	Erwachsen	♂ Unbekannt	Unbekannt	Gut entwickelt	Gut entwickelt	Fehlt	Gut entwickelt	—	Gut entwickelt	Gut entwickelt	Fehlt	Gut entwickelt	—
	3	Sumner 1894	virescens	Erwachsen 7,5 cm lang	♂ Unbekannt	Unbekannt	Gut entwickelt	Gut entwickelt	Fehlt	Wenig entwickelt Aufnahmetrichter fehlt	—	Gut entwickelt	Gut entwickelt	Fehlt	Wenig entwickelt Aufnahmetrichter fehlt	—
	4	Hooker A	fusca	Erwachsen 7,3 cm lang † 4 April	♂ Vorderarmmusk. u. Daumenschwielen gross, letzt. pigment.	Keine	Vergrössert	Kleiner als gewöhnlich	Fehlt	Schwach entwickelt	—	Fehlt	Kleiner als gewöhnlich	Fehlt	Schwach entwickelt	—
	5	Marshall C 1884	temporaria	Unbekannt	♂ Unbekannt	Unbekannt	Fehlt beinahe	Vorhanden	Fehlt	Vorhanden	—	Vergrössert	Vorhanden	Fehlt	Vorhanden	—
	6	Marshall A 1884	temporaria	Unbekannt	♂ Unbekannt	Unbekannt	Normal	Klein	Fehlt	Mässig entwickelt und gewunden. Uterus vorhanden	—	Normal	Klein	Fehlt	Mässig entwickelt und gewunden. Uterus vorhanden	—
	7	Tarnani[2] 1898	esculenta	Unbekannt	♂ Unbekannt	Unbekannt	Normal	Fehlt	Fehlt	Mässig entwickelt	—	Normal	Fehlt	Fehlt	Mässig entwickelt	—
	8	Sutton 1885	temporaria	Unbekannt	♂ Unbekannt	Unbekannt	Normal	Vorhanden	Fehlt	Schwach entwickelt	—	Normal	Vorhanden	Fehlt	Schwach entwickelt	—
B	1	Friedmann 1898	viridis	Erwachsen	♂ Unbekannt	Unbekannt	Eier in den Hodenschläuchen	Unbekannt	Nicht abgesetzt vom Hoden	Unbekannt	—	Eier in den Hodenschläuchen	Unbekannt	Nicht abgesetzt vom Hoden	Unbekannt	—
	2	Hoffmann 1886	fusca	Ein Jahr	♂ Unbekannt	Unbekannt	Eier zwischen den Hodenschläuchen	Unbekannt	Nicht abgesetzt vom Hoden	Unbekannt	—	Eier zwischen den Hodenschläuchen	Unbekannt	Nicht abgesetzt vom Hoden	Unbekannt	—
	3	Latter 1890	temporaria	Unbekannt	♂ Unbekannt	Unbekannt	Eier in und zwischen den Hodenschläuchen	Vorhanden	Nicht abgesetzt vom Hoden	Nicht gewunden, Trichter fehlt, Uterus vorhanden	—	Eier in und zwischen den Hodenschläuchen	Vorhanden	Nicht abgesetzt vom Hoden	Nicht gewunden, Trichter fehlt, Uterus vorhanden	—
	4	Marshall B 1884	temporaria	Unbekannt	♂ Unbekannt	Unbekannt	Eier zwischen den Hodenschläuchen	Klein und spindelförmig	Nicht abgesetzt vom Hoden	Wie bei normalen Weibchen	—	Eier zwischen den Hodenschläuchen	Klein und spindelförmig	Nicht abgesetzt vom Hoden	Wie in normalen Weibchen	—
	5	Mitrophanow 1894[3]	esculenta	Jung, 7 cm lang	♂ Unbekannt	Unbekannt	Eier in den Hodenschläuchen	Fehlt	Nicht abgesetzt vom Hoden	Gut entwickelt	—	Diagnose der Eier nicht sicher	Fehlt	Nicht abgesetzt vom Hoden	Gut entwickelt	—
C	1	Cole 1896	temporaria	Noch nicht geschlechtsreif	♂ Unbekannt	Unbekannt	Enthielt ein fast reifes Ei	Normal	Fehlt	Schwach entwickelt	—	Klein	Fehlt	Grosse Bindegewebsm. mit nur einem einzigen, degenerierten Ei	Gerade verlaufend, rudimentär	Unregelmässig
	2	Ognew 1906	temporaria	Unbekannt	♂ Daumenschwielen gut ausgebildet	Keine	Übermässig gross	Vorhanden	Fehlt	Schwach entwickelt	—	Klein	Normal	Klein	Wohl entwickelt Uterus gross	Lateral
	3	Kent 1885	Unbekannt	Unbekannt	♂ Daumenschwielen gut ausgebildet	Keine	Kleiner als gewöhnlich	Vorhanden	Klein	Wohl entwickelt aber ohne Uterus	Oral und lateral	Normal	Vorhanden	Fehlt	Wie in normalen Weibchen	—
	4	Ridewood 1888	temporaria	Ein Jahr (?)	♂ Unbekannt	Unbekannt	Sehr gross	Klein	Sehr klein	Schwach entwickelt	Oral	Normal, jedoch dreilappig	Grösser als an der rechten Seite	Klein mit wohl entwickelten Eiern	Wie in normalen Weibchen	Lateral
	5	Punnett 1900	Unbekannt	Unbekannt	♂ Daumenschwielen gut ausgebildet	Keine	Normal	Klein	Enthält nur ein Ei	Kleiner Uterus, sonst wohl entwickelt	Lateral	Klein, enthält aber reife Samenfäden	Klein	Gross mit normalen Eiern	Wie in normalen Weibchen	Lateral
D	1	Hooker B	fusca	Erwachsen 8 cm lang † Oktober	Daumenschwielen auf beiden Seiten schwach	Rückenhaut warzig	Vergrössert	Klein und spindelförmig	Klein	Wie in normalen Weibchen	Lateral	Normal	Klein und spindelförmig	Normal	Wie in normalen Weibchen	Oral, lateral und caudal
	2	Smith 1890	temporaria	Erwachsen	Nur am rechten Daumen Schwielen	Unbekannt	Gross	Fehlt	Klein	Mässig entwickelt	Lateral	Klein	Fehlt	Gross	Wie in normalen Weibchen	Lateral und medial
	3	Youngman 1910	temporaria	Erwachsen	Schwache Daumenschwielen	Keine	Klein	Fehlt	Klein	Wie in normalen Weibchen	Ventral	Fehlt	Fehlt	Normal	Wie in normalen Weibchen	—
E	1	Marshall D 1884	temporaria	Unbekannt	Unbekannt	♀ Unbekannt	Gross	Fehlt	Klein	Wie in normalen Weibchen	Unbekannt	Fehlt	Fehlt	Äusserlich normal, enthält aber nur degenerierte Eier	Wie in normalen Weibchen	—
	2	Bourne 1884	temporaria	Unbekannt	Unbekannt	♀ Unbekannt	Fehlt	Fehlt	Normal	Wie in normalen Weibchen	—	Sehr klein, mit Samenfaden	Fehlt	Gross	Wie in normalen Weibchen	Lateral

Der Wert mancher in der Tabelle wiedergegebenen Notizen würde ein grösserer sein, wenn die Autoren auch die Jahreszeit angegeben hätten; dies ist aber nur selten der Fall. Bei dem ausgesprochenen Jahreszyklus in Wachstum und Rückbildung der sekundären Geschlechtscharaktere kann aber eine Bezeichnung wie gross oder klein nur von Belang sein, wenn man weiss, ob die Teile für die bestimmte Jahreszeit gross oder klein sind.

[1]) Nach Ognews Angaben. [2]) Nach Coles Angaben und Zool. Anz., 17, 98, 1894.

Eiern ausbrütete, fand er unter 1450 aufgezogenen Kaulquappen 95 Prozent Weibchen und 5 Prozent Männchen. Da er, praktisch genommen, dieselben Resultate an eben metamorphosierten Fröschen erhielt, die unter den verschiedensten Bedingungen erbrütet waren, so konnte er betreffs der grossen Prozentzahl an Weibchen zu keinem Resultat gelangen. Er nahm daher an, dass dies das normale Verhältnis der beiden Geschlechter sei, ein Verhältnis, das erst später durch grössere Sterblichkeit der Weibchen zu einem gleichen umgewandelt werde, so dass dann unter erwachsenen Tieren gleichviel Männchen und Weibchen sich finden.

Pflüger (1882) fand unter einer grossen Zahl junger Frösche, die er von drei weit voneinander entfernten Gegenden gesammelt hatte, drei Typen von Individuen: erstens Männchen, zweitens Weibchen und drittens Hermaphroditen, d. h. Frösche, deren Geschlecht unbestimmbar war. Der Prozentgehalt an Weibchen war bedeutend höher als der an Männchen. In einer Sendung waren viele Frösche infolge der Hitze zugrunde gegangen und unter ihnen gleichviel Männchen und Weibchen. Daraus zog er den Schluss, dass die Weibchen keine höhere Mortalität haben als die Männchen, aber dass die auf ihr Geschlecht unbestimmbaren Exemplare später echte Weibchen oder Männchen werden und zwar Männchen in grösserer Zahl. Bestärkt in dieser Annahme wurde er durch die Feststellung, dass bei erwachsenen Fröschen die Zahl der Männchen und Weibchen gleich ist. Pflüger stellte weiter durch Beobachtung fest, dass ein auf sein Geschlecht nicht bestimmbares Fröschchen im Lauf des ersten, zweiten und dritten Lebensjahres zu einem Männchen werden könnte, und dass solche Männchen in der Zwischenzeit, so lange noch die Geschlechtsdrüsen vorwiegend den weiblichen Charakter tragen, für Weibchen gehalten werden.

Schmitt-Marcel (1908) prüfte die Frage an ungefähr 4500 Fröschen, unter denen er von mehr als 3000 den ganzen Entwicklungsverlauf kannte. Seine Resultate zeigen, dass nicht allein drei Geschlechtstypen bei jungen Fröschen vorkommen, sondern dass auch eine grosse Zahl solcher Individuen, die zuerst weiblichen Charakter tragen, später zu echten Männchen umgebildet werden müssen. In der Tat ist die Gruppe von Fröschen mit unbestimmbarem Geschlecht von Weibchen in Übergangsstadien gebildet. Die Umwandlung beginnt im zweiten Monat

nach der Metamorphose und dauert so lange, bis gleichviel Männchen und Weibchen vorhanden sind (selbstverständlich gilt dies nur innerhalb der statistischen Fehlergrenzen). Die gleiche Zahl der Geschlechter ist im 22. Monat erreicht. Die grösste Zahl sogenannter Hermaphroditen wird am Ende des ersten Jahres gefunden. Schliesslich bestätigt Schmitt-Marcel die Beobachtungen Pflügers, dass die Weibchen keine höhere Sterblichkeit haben als die Männchen.

Pflüger untersuchte die Geschlechtsdrüsen seiner Versuchstiere an Oberflächen-, Rasiermesserschnitt- und Zupfpräparaten bei Lupenvergrösserung und fand schon mit diesem Hilfsmittel, dass die unbestimmbaren Organe Eier und Ursamenzellen enthielten, also wirklich hermaphroditisch waren. Schmitt-Marcel fügte den Nachweis an Serienschnitten hinzu, dass bei den Tieren im Übergangsstadium Eizellen degenerierten und Spermatogonien sich von indifferenten Zellen des „Keimepithels" entwickelten. Das letztere ist nach den Erfahrungen M. Nussbaums nicht der Fall, da es beim Frosch kein Keimepithel gibt. Doch braucht die Frage, woher die Spermatogonien stammen, hier nicht aufgerollt zu werden. Die Spermatogonien vermehren sich und das geht ja hinlänglich sicher aus der Tatsache hervor, dass die Drüse später ein echter Hoden wird.

Kuschakewitsch (1910) gibt in einer ins einzelne gehenden Beschreibung die Entwicklungsgeschichte der Keimdrüse bei Rana esculenta. Er findet, dass bei normaler Entwicklung drei scharf unterscheidbare Typen von Keimdrüsenanlagen gefunden werden: Männchen, Weibchen und eine intermediäre Form oder Pflügersche Hermaphroditen, wie er diese dritte Form nennt. Diese Hermaphroditen kann man von echten Weibchen an verschiedenen Zeichen leicht unterscheiden. Er verwirft die Annahme Schmitt-Marcels, dass die Zellen des indifferenten Keimepithels Gruppen bilden als Anlagen der Hodenschläuche. Kuschakewitsch glaubt vielmehr, dass das Hodengewebe von indifferenten Zellen abstammt, welches in die Geschlechtsdrüsen aus dem Wolffschen Körper einwandert, nachdem das weibliche „Keimepithel" bis auf einen kleinen Rest zugrunde gegangen war. Aus solchen Tieren, die er als „intermediäre" bezeichnete, können dann durch Fortentwicklung des weiblichen Restes der hermaphroditischen Geschlechtsdrüse und Rückbildung

des schon vorhandenen Hodens schliesslich Weibchen hervorgehen, während die Mehrzahl dieser intermediären Formen zu Männchen umgebildet wird. Eine sachliche Kritik dieses Umbildungsmodus und namentlich der Entstehung des Hodens aus dem Nierengewebe wird man an dieser Stelle nicht erwarten können, da schon seit Sempers grundlegenden Untersuchungen der Nachweis geführt wurde, dass der Hoden in seinem funktionellen Teile vom „Keimepithel" abstamme und dass, wie Nussbaum und nach ihm eine grosse Zahl anderer Autoren lehrten, Eier und Samenfäden von den Geschlechtszellen sich ableiten, welche in die von Waldeyer „Keimepithel" genannte Gegend der späteren Geschlechtsdrüsen einwandern.

Wenn der Übergang von einem intermediären Frosch zu einem Männchen abgeschlossen ist, so findet man die Müllerschen Gänge bis auf einen einfachen Gewebestrang degeneriert. Das ist das gewöhnliche Schicksal der Müllerschen Gänge bei männlichen Fröschen, wie dies Leydig (1853) und andere[1]) gezeigt haben. Im Hinblick auf die Tatsache, dass bei jedem in der Literatur beschriebenen Fall von Hermaphroditismus, wenn der Zustand der Adnexe berücksichtigt wurde, die Müllerschen Gänge besser entwickelt waren als bei normalen Männchen, ist es höchst wahrscheinlich, dass beim Übergangsprozess die Müllerschen Gänge als letzter Teil des Geschlechtsapparates degenerieren. Trifft diese Annahme zu, so macht das Vorkommen von Müllerschen Gängen bei Männchen als einziger Rest der weiblichen Geschlechtsorgane es wahrscheinlich, dass die Frösche in Gruppe A in unserer Tabelle Übergangshermaphroditen sind, bei denen der Umbildungsprozess zum Stillstand kam, nachdem die Eier degeneriert waren und die Vermehrung der Spermatogonien den Charakter der Geschlechtsdrüse völlig verändert hat.

Nun ist es interessant zu sehen, dass von den Fällen der Tabelle, welche vorwiegend männlichen Charakters sind, über 44 Prozent keinen anderen Hermaphroditismus zeigen, als das Vorkommen von Müllerschen Gängen neben den Hoden. Ich halte es nicht für unwahrscheinlich, dass folgende Überlegung hierfür eine Erklärung abgeben könnte. Die Arbeiten von Harms (1910) und Meisenheimer (1911) haben den Nachweis

[1]) Johannes Müller (1830), Burow (1832), Rathke (1832) und andere.

erbracht, dass die innere Sekretion der Geschlechtsdrüsen eines Geschlechtes auch die Adnexe des anderen Geschlechtes beim Frosch vergrössern kann.[1]) Für gewöhnlich schwellen die Reste der Müllerschen Gänge bei Männchen im Lauf des Jahreszyklus weder an noch ab. Die Gänge sind eben so weit zurückgebildet, dass sie auf den Geschlechtsreiz im erwachsenen Tier nicht zu reagieren vermögen. Würden aber bei einem langsam verlaufenden Schwund der Eier in der Zwitterdrüse die Müllerschen Gänge in der ersten Entwicklung etwas weiter als es gewöhnlich geschieht, ausgebildet worden sein, so müssten sie trotz des Fehlens des Eierstockgewebes, dem zyklischen Reiz von seiten der Hoden folgend, sich auch beim Erwachsenen vergrössern und wieder abschwellen können. Es müsste somit beim erwachsenen Männchen je nach der Jahreszeit aus dem etwas weiter als gewöhnlich entwickelten Rest eines Müllerschen Ganges ein zwar kleiner, aber doch mit blossem Auge sichtbarer Eileiter entstehen können.

Selbstverständlich ist es, so weit unsere jetzigen Mittel reichen, unmöglich, mit Sicherheit den Nachweis zu führen, dass die oben beschriebenen 44 Prozent von Männchen alle dem Übergangstypus angehören. Es ist auch unmöglich, ein wirkliches Gesetz abzuleiten, wonach die gelegentlich erscheinenden Hermaphroditen aus Übergangshermaphroditen hervorgehen. Da aber alle unsere Vorstellungen über den Hermaphroditismus bei höheren Wirbeltieren im grossen und ganzen spekulativer Art sind, so darf man wohl sagen, dass die oben vorgetragenen Anschauungen besser begründet sind als die meisten anderen über diesen Gegenstand.

Die Gruppe B enthält eine Serie von Fällen, die nach gewissen Richtungen schwieriger unterzubringen sind. Es wird nicht bestritten, dass die ersten Geschlechtszellen äusserst wenig differenziert sind und man bei ihnen keine Merkmale aufgefunden hat, welche die Vorläufer der Hoden oder Eierstocksdrüse voneinander zu unterscheiden lehrten. Wir kennen auch nichts Sicheres über die Ursachen der Geschlechtsentstehung bei Wirbeltieren, wenn auch bei manchen Wirbellosen eine Reihe von Forschungen durch Variation äusserer Bedingungen ein bestimmtes Geschlecht erzeugt hatte. Experimentelle Studien am Frosch haben bis heute nichts Sicheres über die Entstehung des Ge-

[1]) Dies gilt aber für Insekten und Säugetiere nicht, wie Meisenheimer selbst und jüngst erst Steinach gezeigt haben.

schlechtes gelehrt. Wenn wir aber auch die Ursachen der Veränderungen in der hermaphroditischen Geschlechtsdrüse des Frosches nicht kennen, so wissen wir doch, dass bei einem Frosch der Übergangsgruppe schliesslich ein Hoden resultiert. Bleiben die Zwischenstadien erhalten, so muss man bei solchen Tieren auch Eier finden, die entweder zwischen oder in den Hodenschläuchen liegen. Die Tiere mit derartigen Anomalien sind unter Gruppe B vereinigt. Es ist möglich, dass sich Eier bei den 15 Prozent anfänglichen Männchen, die Schmitt-Marcel beschreibt, entwickeln; aber das Gewicht der Tatsachen weist darauf hin, dass die Mehrzahl der Frösche in den Gruppen A und B (56,5 Prozent aller beschriebenen Fälle) wirklich Übergangshermaphroditen sind.

Hermaphroditismus aus anderen Ursachen.

Die Gruppen C, D und E stellen eine von dem Übergangshermaphroditismus durchaus verschiedene Art abnormer Geschlechtsbildung dar, weshalb sie hier als Hermaphroditen „aus anderen als Übergangshermaphroditismus-Ursachen entstanden" bezeichnet werden. Die Frösche in Gruppe B haben, wie schon oben des näheren ausgeführt wurde, Eier und Spermatogonien in ihren Geschlechtsdrüsen gemischt. Bei den letzten drei Gruppen der Tabelle haben acht dieser Fälle ausgesprochen doppelte Geschlechtsorgane auf beiden Seiten, und zwei weitere haben doppelte Organe auf einer Seite und nur ein Organ auf der anderen. Bei dieser Verdopplung der Organe ist der Eierstock absolut vom Hoden getrennt und hat sich, wie wir annehmen dürfen, von einem durchaus gesonderten Teil der Geschlechtszellen entwickelt. Ein solcher Vorgang ist bei Übergangsfröschen nicht gewöhnlich und es ist wahrscheinlich, dass diese Hermaphroditen direkt entstehen. Kuschakewitsch bringt freilich verschiedene der in C, D und E untergebrachten Fälle in die Gruppe der Übergangsfrösche. Man kann dieser Meinung sein, wenn es auch zweifelhaft ist, ob sie das Richtige trifft, wie es auch aus den eigenen Untersuchungen von Kuschakewitsch über Übergangsformen hervorgeht.

Die in Gruppe C aufgeführten Frösche unterscheiden sich von den in Gruppe E vereinigten ganz wesentlich durch den Zustand der Müllerschen Gänge, die in C nicht durchaus so gut entwickelt sind als in E.

Cole hat den Satz aufgestellt, dass das Fehlen von Samenblasen ein Tier zum Weibchen stemple, selbst wenn andere Teile des männlichen Geschlechtsapparates vorhanden sind. Diese Auffassung hat in der Tabelle keine Anwendung gefunden. Wie schon erwähnt wurde, hat Rana esculenta keine eigentlichen Samenblasen. Darum sind die Fälle von Tarnani (A_7) und von Mitrophanow (B_5) nicht als Weibchen aufgeführt worden. Coles eigener Fall ist zweifellos männlichen Geschlechts, obwohl die linke Samenblase fehlt. Nachdem die Untersuchungen von Harms und Meisenheimer vorliegen, wovon wir oben berichteten, sind, wie dies namentlich Nussbaum zu zeigen verstand, die Geschlechtsdrüsen das Geschlechtsbestimmende und man wird nicht weiterhin, wie zu Coles Zeiten (1896) es noch erlaubt war, einen anderen Teil des Geschlechtsapparates für den geschlechtsregulierenden halten dürfen.

Ein ganz besonderes Interesse bietet unter den hier besprochenen drei Gruppen der Tabelle die Gruppe D, die den vollkommensten Fall von Hermaphroditismus verus bilateralis (D_1) enthält, über den bis jetzt in der Literatur berichtet worden ist. Der Genitalapparat ist auf beiden Seiten vollkommen getrennt zweigeschlechtlich. Wenn auch die Samenblasen klein sind und von dem normalen fusca-Typus abweichen, so ist dennoch kein anatomischer Grund aufzufinden, weshalb der Frosch die Funktionen beider Geschlechter nicht hätte vollziehen können. In den Eierstöcken liegen reife Eier, und in den Hoden sind wohlgebildete, reife Samenfäden vorhanden. Nicht allein sind die Geschlechtsorgane in doppelter Ausführung, in männlicher und weiblicher Form vorhanden, sondern auch die äusseren Geschlechtszeichen beider Geschlechter finden sich vor. Gerade dieserhalb stellt das Exemplar eine so vollendete, bilateral-hermaphroditische Mischung dar. Abgesehen von den äusseren Geschlechtscharakteren, welche sie zeigen, sind die anderen Fälle der Gruppe D von keinem besonderen Interesse an dieser Stelle, da sie an den Geschlechtsdrüsen nichts Ausserordentliches zeigen. Wir werden sie daher in den nächsten Paragraphen besonders behandeln.

Sekundäre Geschlechtscharaktere.

Es gibt nicht allein einen Hermaphroditismus der Keimdrüsen, sondern auch einen Typus von Hermaphroditismus der

sekundären Geschlechtscharaktere. Dieser Typus hat für gewöhnlich auch Zwitterdrüsen: es kommt aber, wenn auch freilich selten, vor, dass bei eingeschlechtlichen Keimdrüsen der Hermaphroditismus der äusseren Geschlechtscharaktere allein ausgeprägt ist. Wie Brandt (1889) zeigte, kann ein Tier die äusseren Kennzeichen des einen Geschlechtes und trotzdem die Keimdrüsen des anderen tragen.

Sehr zu bedauern ist es, dass nur in 7 von den 23 in unserer Tabelle zusammengestellten Fällen Angaben über äussere Geschlechtscharaktere gemacht worden sind; namentlich gilt dies für Gruppe D, wo volle Angaben ungemein wichtig wären. Es ist auch zu beklagen, dass die zwei Fälle in Gruppe E nicht eingehender beschrieben worden sind, wenn auch gesagt wird, dass ihre äusseren Geschlechtsmerkmale weiblich wären.

Der erste Fall in Gruppe D ist dadurch ausgezeichnet, dass er, wie schon angegeben, die Charaktere beider Geschlechter auf beiden Seiten aufweist. Er unterscheidet sich dadurch von Fall 2 derselben Gruppe, wo auf einer Seite des Körpers männliche Geschlechtscharaktere sich finden, während sie auf der anderen Seite fehlen. Ob weibliche Charaktere auf der anderen Seite vorhanden sind, wird nicht angegeben, doch wäre dies wichtig gewesen, weil das Fehlen der männlichen Charaktere die weiblichen noch nicht ersetzt. Daher erinnert dieser Fall nur zu einem gewissen Grade an Webers wohlbekannten Fall von getrenntem Hermaphroditismus bei Fringilla coelebs. Dieses Exemplar hatte auf der einen Körperseite einen Hoden und männliches Gefieder, auf der anderen Seite einen Eierstock und weibliches Gefieder. Hierher gehören auch manche Insektenzwitter.

Die Frage nach dem Zusammenhang zwischen sekundären Geschlechtscharakteren und Keimdrüsen ist aber mit dem Problem der inneren Sekretion so verknüpft, dass wir mit einigen Worten auf diesen Gegenstand hier eingehen müssen.

Innere Sekretion.

Mit Rücksicht auf die Literatur verweisen wir auf Nussbaums Abhandlung (1905) und führen hier nur das Folgende an.

Der Einfluss innerer Sekretion auf sekundäre Geschlechtscharaktere ist von einer grossen Zahl von Experimentatoren nachgewiesen worden. Seit den Arbeiten von Brown-Séquard (1889)

kam die Frage von neuem in Fluss, wenn auch die ersten wertvollen Experimente auf diesem Gebiete von Berthold aus dem Jahre 1849 herrühren. Er machte an Hähnen Versuche und zeigte dabei, dass nach der Kastration die äusseren Geschlechtszeichen zurückgehen und nach der Implantation von Hoden wieder wachsen. Freilich gelang ihm nicht der sichere Nachweis, dass es der Blutweg sei und nicht das Nervensystem, wodurch diese Wirkung zustande käme.

In der Folgezeit und, wie gesagt, seit der Zeit von Brown-Séquard, hat man unausgesetzt an der Lösung dieser Frage gearbeitet. Die benutzten Methoden waren Kastration, Transplantation von Keimdrüsengewebe und Injektionen von zermalmten oder extrahierten Keimdrüsen.

Oudermans, Kellogg, Crampton, Meisenheimer, Kopéc und andere haben bei Insekten nachgewiesen, dass die sekundären Geschlechtscharaktere in einem äusserst frühen Stadium der Entwicklung festgelegt sind und auch nicht einmal durch Kastration und Einpflanzung der Keimdrüsen des anderen Geschlechtes verändert werden können, auch wenn die Transplantation lange vor der Geschlechtsreife in jungen Puppen ausgeführt werde.

Die Versuche an Wirbeltieren ergaben, dass hier die sekundären Geschlechtscharaktere durch die Kastration abgeschwächt und durch Transplantation und Injektion wiederhergestellt werden. Bis jetzt sind freilich, wegen der Schwierigkeiten in der Operationstechnik an Weibchen, die Versuche vorzugsweise an Männchen angestellt. Hinlänglich bekannt ist es, dass vor der Ausbildung der Hoden die Männchen keine sekundären Geschlechtscharaktere besitzen, die sie von den Weibchen unterscheiden könnten. Man sagt wohl, und das trifft im allgemeinen zu, dass kastrierte Männchen durch Verlust ihrer Geschlechtscharaktere sich dem weiblichen Typus nähern. Aber man muss bedenken, dass auch die Weibchen sekundäre Charaktere besitzen, die bei kastrierten Männchen niemals sich entwickeln. Im allgemeinen ist auch die weibliche Form die einfachere, ohne dass man sagen könnte, dieser Satz sei ohne Ausnahme. Man braucht nur an die Zwergmännchen der Cirripedien zu denken. Immerhin hat Bresca (1910) bei Triton cristatus gezeigt, dass das Weibchen kaum durch die Kastration geändert wird, während das Männchen tiefgehende Umwandlungen erleidet.

An Fröschen zeigte Nussbaum (1905a), dass die Männchen nach der Kastration ihre sekundären Geschlechtscharaktere verlieren, während die Entfernung eines einzigen Hodens, wie Gerhartz (1905b) nachgewiesen hat, keinen Einfluss ausübt. Wird die doppelseitige Kastration ausgeführt zur Zeit, wenn die accessorischen Geschlechtsorgane wohl entwickelt sind, so gehen sie wieder zurück und Daumenschwielen, Samenblasen und Muskeln der Vorderarme atrophieren. Wenn dagegen im Lauf des jährlichen Zyklus die accessorischen Organe wieder klein geworden waren, und man nimmt um diese Zeit eine Kastration des Männchens vor, so bleiben Daumenschwielen, Samenblasen und Muskeln der Vorderarme klein. Wenn aber Stücke des reifen Hodens eines frisch gefangenen Frosches in den Lymphsack eines Kastraten eingeführt werden, so erscheinen die sekundären Geschlechtscharaktere wieder, selbst wenn mehr als ein Jahr nach der Kastration verflossen war. Da in den Lymphsäcken die eingeführten Hodenstücke weder mit Blutgefässen noch mit Nerven versorgt werden, so dauert der vergrössernde Einfluss auf die sekundären Geschlechtscharaktere nicht lange an, und zwar nicht länger, als bis die im eingeführten Hoden enthaltenen wirksamen Stoffe aufgebraucht sind. Regeneration der sekundären Geschlechtscharaktere tritt auch nach Injektionen zerquetschter Hodensubstanz auf: ebenso, wenn in einem Kastraten ein transplantiertes Hodenstückchen sich selbst wieder vergrössert hat.

Meisenheimer hat 1911 gezeigt, dass nicht allein Hodenübertragung, sondern auch Übertragung von Eierstocksgewebe bei männlichen Kastraten die sekundären Geschlechtsorgane zur Schwellung bringe. Nicht unerwähnt darf bleiben, dass W. Harms schon 1910 den Fund gemacht hatte, dass der Klammerreiz beim Männchen sowohl durch Injektion von Hoden als Eierstockssubstanz ausgelöst werden kann: beides Erfahrungen, die eine ausgezeichnete Stütze für die Homologie der Keimdrüsen in beiden Geschlechtern abgeben.

Die Frage nach dem chemischen Einfluss des Hodens auf die sekundären Geschlechtscharaktere der Frösche ist seit Nussbaums Arbeiten im bejahenden Sinne entschieden. Ob der Angriffspunkt der bis jetzt noch nicht bekannten Stoffe in dem zu den sekundären Geschlechtsorganen gehörigen Teil des zentralen Nervensystems oder ohne die Vermittlung zentrifugaler Nerven

in den Zellen der sekundären Geschlechtsorgane selbst zu suchen sei, ist noch strittig.

Hermaphroditismus bei anderen Wirbeltieren ausser bei Fröschen.

Die Fälle von Hermaphroditismus bei Bufonidae, so weit sie bekannt geworden sind, sind nur wenige. Das Vorkommen des Bidderschen Organes erschwert es, wirklichen von scheinbarem Hermaphroditismus zu unterscheiden. Wahrscheinlich ist eine Zahl von Fällen, darunter z. B. der von King, nur scheinbarer Hermaphroditismus. So liegt auch in der Tat in vier von den Fällen das Ovarium oral zum Hoden, an der Stelle, wo normalerweise das Biddersche Organ sich findet. Nach Knappes Beschreibung war ein doppeltes Biddersches Organ auf beiden Seiten vorhanden.

Kuschakewitsch nimmt an, „dass das Biddersche Organ von Bufo und die intermediäre Keimdrüse von Rana dieselbe morphologische Bedeutung haben und eine rudimentäre, archaische, protogyne Keimdrüse in der ersten (weiblichen) Phase ihrer Ausbildung darstellt". Die Ergebnisse der Meynsschen Untersuchungen sprechen aber dafür, dass die intermediären Keimdrüsen von Rana eher ein entwicklungsgeschichtlicher Zustand als ein atavistisches Überbleibsel seien. Dieser Forscher fand, dass transplantierte Hoden von Rana auf einen sehr primitiven Entwicklungsgrad zurückgebracht werden, ehe die Regeneration einsetzt, und dass sowohl Spermatogonien als Eier zuerst gebildet werden, bevor die Eier wieder degenerieren, und die Spermatogonien ihre weitere Entwicklung fortsetzen. In diesen experimentellen Untersuchungen finde ich einen wertvollen Beweis dafür, dass diejenigen hermaphroditischen Frösche, welche Eier in den Hoden führen, wirkliche intermediäre Formen sind, die keineswegs, wie Kuschakewitsch meint, durch Atavismus erklärt werden können.

Bei den Urodelen hat nur von la Valette St. George einen Fall von Hermaphroditismus bei Triton beschrieben. Dieser Fall verdient jedoch besonders erwähnt zu werden, weil er dem hermaphroditischen Frosch D_1 unserer Tabelle sehr ähnlich ist, obwohl der Triton nur äussere männliche Geschlechtscharaktere hat, und ihm die Eileiter fehlen. Die Keimdrüsen dagegen verhalten sich in ihrem Entwicklungsgrad und ihrer gegenseitigen Lage

genau wie die unseres Frosches, D_1. Die Eierstöcke sind wohl entwickelt; sie erscheinen normal und enthalten reife Eier. Die Hoden sind eben so völlig normal und haben reife Samenfäden entwickelt. Überdies liegen die Eierstöcke lateral zu dem Hoden: alles Eigenschaften, die mit denen von Frosch D_1 parallel gehen.

Hermaphroditen bei den Vögeln sind nicht selten. Arrhenoidie und Thelyidie sind ein häufiges Vorkommnis. Es liegt aber nicht in unserer Absicht, die in der Literatur verzeichneten Fälle hier aufzuführen.

Mit dem Aufstieg in der phylogenetischen Reihe wird der Hermaphroditismus immer seltener. Bei Menschen sind bis jetzt nur fünf Fälle beschrieben worden. Bei den Säugetieren ausser dem Menschen hat man Hermaphroditen recht oft gefunden; aber der echte Hermaphrodit (Hermaphroditismus verus bilateralis) ist immerhin eine Seltenheit.

Resultate.

1. Es gibt neben dem wahren und falschen noch eine Übergangs- und stationäre Form von Hermaphroditismus bei Fröschen.
2. Die meisten der bis jetzt beschriebenen Frosch-Hermaphroditen (65,5 Prozent) gehören höchst wahrscheinlich zum Übergangstypus.
3. Von 78 Prozent der beschriebenen Frosch-Hermaphroditen würde man ohne genauere Untersuchung annehmen, sie seien Männchen.
4. Für die Lehre von der inneren Sekretion ist das in der Literatur verarbeitete Material von nur geringem Wert. Hier kann nur das Experiment weiter fördern.

Literaturverzeichnis.

* bedeutet: nicht persönlich zugänglich.

Berthold, A., 1849: Transplantation der Hoden. Arch. f. Anat. u. Phys. u. wiss. Med.

Born, G., 1881: Experimentelle Untersuchungen über die Entstehung der Geschlechtsunterschiede. Breslauer ärztl. Zeitschr.

Bourne, A. G., 1884: On certain abnormalities in the common frog. Quart. Journ. of Mikr. Science, Vol. 24.

Brandt, A., 1889: Anatomisches und Allgemeines über die sogenannte Hahnenfedrigkeit und über anderweitige Geschlechtsanomalien bei Vögeln. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 48.

Bresca, G., 1910: Experimentelle Untersuchungen über die sekundären Sexualcharaktere der Tritonen. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 29.

Brown-Séquard, 1889: Expérience démontrant la puissance dynamogenique chez l'homme d'un liquide extrait de testicules d'animaux. Arch. de physiol. norm. et path.

Burkardt, L., 1912: Über die Rückbildung der Eier gefütterter, aber unbegatteter Weibchen von Rana esculenta. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 79.

Cole, F. J., 1896: On a case of hermaphroditism in Rana temporaria. Anat. Anz., Bd. 11.

Crampton, H. E., 1900: An experimental study upon Lepidoptera. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 9.

Friedmann, F., 1898: Rudimentäre Eier im Hoden von Rana viridis. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 52.

Gerhartz, H., 1905a: Rudimentärer Hermaphroditismus bei Rana esculenta. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 65.

Derselbe, 1905b: Anatomie und Physiologie der samenableitenden Wege der Batrachier. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 65.

Harms, W., 1910: Hoden- und Ovarialinjektionen bei Rana fusca-Kastraten. Arch. f. ges. Phys., Bd. 133.

Hoffmann, 1886: Zur Entwicklungsgeschichte der Urogenitalorgane bei den Anamnia. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 44.

Kellogg, V. L., 1904: Influence of the primary reproductive organs on the secondary sexual characters. Journ. of Exper. Zool., Vol. 1.

Kent, A., 1885: A case of abnormal development of the reproductive organs in the frog. Journ. Anat. and Phys., Vol. 19.

King, H. D., 1910: Some anomalies in the genital organs of Bufo lentiginosus and their probable significance. Amer. Journ. of Anat., Vol. 10.

Knappe, E., 1886: Das Bidder sche Organ. Morph. Jahrbuch, Bd. 11.

Kopéc, S., 1911: Untersuchungen über Kastration und Transplantation bei Schmetterlingen. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 33.

Kortschagin, A. N., 1890*: Fall einer Anomalie der Geschlechtsorgane beim Frosche. Tagebl. d. zool. Abt. d. Gesellsch. d. Naturfr. (Moskau).

Kuschakewitsch, S., 1910: Die Entwicklungsgeschichte der Keimdrüsen von Rana esculenta. Festschr. R. Hertwigs, Bd. II.

Latter, 1890: Abnormal reproductive organs in Rana temporaria. Journ. of Anat. and Phys., Vol. 24.

Leydig, F., 1853: Anatomisch-histologische Untersuchungen über Fische und Reptilien. Berlin.

Marshall, A. M., 1884: On certain abnormal conditions of the reproductive organs in the frog. Journ. of Anat. and Phys., Vol. 18.

Meisenheimer, J., 1908: Ergebnisse einiger Versuchsreihen über Exstirpation und Transplantation der Geschlechtsdrüsen bei Schmetterlingen. Zool. Anz., Bd. 32.

Derselbe, 1909: Experimentelle Studien zur Soma- und Geschlechtsdifferenzierung. Jena.

Derselbe, 1910: Zur Ovarialtransplantation bei Schmetterlingen. Zool. Anz., Bd. 35.

Derselbe, 1911: Über die Wirkung von Hoden- und Ovarialsubstanz auf die sekundären Geschlechtsmerkmale des Frosches. Zool. Anz., Bd. 38.

Meyns, R., 1910: Über Froschhodentransplantation. Arch. f. ges. Phys., Bd. 132.

Mitrophanow, P. J., 1894a*: Ein Fall von Hermaphroditismus beim Frosche. Arb. aus d. zool. Lab. d. Univ. Warschau, Bd. IX.

Derselbe, 1894b: Auszug im Zool. Anz., Bd. 17, S. 98.

Nussbaum, M., 1905a: Einfluss des Hodensekretes auf die Entwicklung der Brunstorgane des Landfrosches. Sitz.-Ber. d. Niederrhein. Gesellsch. f. Nat.- u. Heilkunde.

Derselbe, 1905b: Innere Sekretion und Nerveneinfluss. Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch., Bd. 15.

Derselbe, 1906: Innere Sekretion und Nerveneinfluss. Anat. Anz., Bd. 29.

Derselbe, 1909: Hoden und Brunstorgane des braunen Landfrosches (Rana fusca). Arch. f. ges. Phys., Bd. 126.

Ognew, S. J., 1906: Ein Fall von Hermaphroditismus bei Rana temporaria. Anat. Anz., Bd. 29.

Oudemans, J. T., 1899: Falter aus kastrierten Raupen, wie sie aussehen und wie sie sich benehmen. Zool. Jahrb., Bd. 12.

Pedaschenko, D., 1890*: Anomalie der Geschlechtsdrüsen beim Frosch. Naturwiss. Mitteil. (Vestnik eststwosnania).

Pflüger, E., 1882: Über die das Geschlecht bestimmenden Ursachen und die Geschlechtsverhältnisse der Frösche. Arch. f. ges. Phys., Bd. 29.

Punnett, R., 1900: Note on a hermaphrodite frog. Annals and Mag. of Nat. Hist.

Ridewood, W. G., 1888: On an abnormal genital system in the male of the common frog (Rana temporaria). Anat. Anz., Bd. 3.

Schmitt-Marcel, W., 1908: Über Pseudohermaphroditismus bei Rana temporaria. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 72.

Semper, C., 1875: Das Urogenitalsystem der Plagiostomen und seine Bedeutung für das der übrigen Wirbeltiere. Arb. aus d. zool.-zoot. Inst. in Würzburg, Bd. II.

Smith, W. R., 1890: A case of hermaphroditism in the common frog (Rana temporaria). Journ. of Anat. and Phys., Vol. 24.

Steinach, E., 1911: Umstimmung des Geschlechtscharakters bei Säugetieren durch Austausch der Pubertätsdrüsen. Zentralbl. f. Phys., Bd. 25.
Sutton, J. B., 1885: Diseases of the reproductive organs in frogs, birds and mammals. Journ. of Anat. and Phys., Vol. 19.
Sumner, F. B., 1894: Hermaphroditism in Rana virescens. Anat. Anz., Bd. 9.
Tarnani, 1898*: Anomalie im Bau der Geschlechtsorgane des Frosches. Notiz d. Nowo-Alexandriner Landwirtsch. Inst.
v. la Valette St. George, 1895: Zwitterbildung beim kleinen Wassermolch (Triton taeniatus). Arch. f. mikr. Anat., Bd. 45.
Waldeyer, W., 1870: Eierstock und Ei. Leipzig. W. Engelmann.
Weber, M., 1890: Über einen Fall von Hermaphroditismus bei Fringilla coelebs. Zool. Anz., Bd. 13.
Youngman, W., 1910: A specimen of Rana temporaria with abnormal reproductive organs. Anat. Anz., Bd. 35.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel IX.

Fig. 1. Der Geschlechtsapparat des Froschhermaphroditen D, in zweifach linearer Vergrösserung. E = rechter Eileiter; N = Nieren; Od = rechter Eierstock; Os = linker Eierstock; Td = rechter Hoden; Ts = linker Hoden; U = linker Uterus. Die in den Uterus eingeführte Sonde kommt bei U in der Kloake wieder zum Vorschein; W = Wolffsche Gänge. Die in den linken Wolffschen Gang eingeführte Sonde kommt in der Zeichnung median von der Uterussonde wieder zum Vorschein: sie ist durch eine breite Substanzbrücke von der Uterussonde getrennt.

Fig. 2. Der linke Hodeneierstock ungefähr dreifach linear vergrössert.

Aus dem anatomisch-biologischen Institut zu Berlin.

Das Schicksal des mit Radium bestrahlten Spermachromatins im Seeigelei.

Eine experimentell-cytologische Untersuchung.

Von

Günther Hertwig.

Hierzu Tafel X—XII und 9 Textfiguren.

Inhalt:

Seite

1. Einleitung 201
2. Übersicht über die Ergebnisse, die bisher durch Radiumbestrahlung tierischer Keimzellen gewonnen wurden 203
3. Material und Untersuchungsmethoden 206
4. Erste Gruppe der Versuche: Das Verhalten des Radiumchromatins in den normal zweigeteilten Eiern 207
5. Zweite Gruppe der Versuche: Das Verhalten des Radiumchromatins in den Eiern, die die Erscheinungen der Knospenfurchung zeigten 215
6. Zusammenfassung der Ergebnisse: Der Kern als Überträger der Radiumschädigung. Die Vermehrungsunfähigkeit des intensiv bestrahlten Spermachromatins 227
7. Vergleich der Ergebnisse der Radiumexperimente mit den Arbeiten von Herbst, Boveri und Teichmann und den Bastardierungsversuchen von Kupelwieser, Baltzer, Born usw. 230

1. Einleitung.

Wer die biologische Literatur des letzten Jahrzehntes überblickt, der wird sich leicht überzeugen können, dass unter den Forschungsmethoden, deren sich der Biologe bedient, augenblicklich das Experiment eine besonders bevorzugte Stellung einnimmt. Und mit Recht; denn es kann keinem Zweifel unterliegen, dass die experimentelle Behandlung biologischer Probleme uns manchen neuen Einblick in die Lebensvorgänge gewährt und unser Wissen in jeder Hinsicht bereichert hat.

Aber hiesse es nicht die Bedeutung des Experimentes für die Biologie überschätzen, wenn wir von ihm allein allen künftigen Fortschritt erwarteten? Nie wird das Experiment in der Hand

des Biologen mehr als ein Hilfsmittel zur Erforschung des Lebensproblems sein, das sich zu den altbewährten Forschungsmethoden der exakten Beobachtung, wie es namentlich die morphologischen Wissenschaften ausgebildet haben, hinzugesellt.

So ist denn auch gerade neuerdings das Bedürfnis immer reger geworden, die Vorgänge, die unter den bestimmten Bedingungen des jeweiligen Experimentes auftreten, mit Hilfe des Mikroskopes bis in die feinsten Einzelheiten zu verfolgen. Es kann schon jetzt keinem Zweifel unterliegen, dass diese Verbindung experimenteller und cytologischer Forschung für die Biologie von hoher Bedeutung ist. Erst die feinere mikroskopische Analyse der experimentellen Ergebnisse hat in so manchen Fällen die Entscheidung über wichtige Fragen gebracht.

Hier nur zwei Beispiele:

Loeb gelang es, Seeigeleier durch Molluskensamen zur Entwicklung anzuregen. Er beobachtete die Entstehung von Larven mit rein mütterlichen Charakteren. Da er annahm, dass in diesem Fall tatsächlich eine Befruchtung des Seeigeleies durch den Molluskensamen stattgefunden habe, so schloss er aus der Tatsache, dass das angebliche Bastardprodukt keine väterlichen Eigenschaften bis zum Gastrulastadium erkennen liess, dass der Samenfaden auf den Ablauf der ersten Entwicklungsprozesse keinen Einfluss habe, dass vielmehr allein das Ei mit seinem Protoplasma hierfür bestimmend sei. Erst die cytologische Untersuchung Kupelwiesers zeigte, dass die Annahme Loebs, es handele sich in seinen Versuchen um tatsächliche Entstehung von Bastardlarven, irrtümlich war. Kupelwieser wies nämlich nach, dass der Molluskenspermakern gar nicht mit dem Seeigeleikern verschmilzt, sondern in dem artfremden Plasma zugrunde geht. „Es handelt sich also in den Versuchen von Loeb gar nicht um einen Fall von heterogener Kreuzung, sondern um eine eigentümliche Form von künstlicher Parthenogenese.“ (O. Hertwig.)

Als zweites Beispiel führe ich die Frage nach der Natur der von Winkler experimentell erzeugten angeblichen Pfropfbastarde an. Wie Winkler durch cytologische Untersuchung der Chromosomenzahl in den somatischen Zellen zeigen konnte, ist Solanum tubigense nicht durch Verschmelzung zweier somatischer Zellen der zur Pfropfung benutzten Stammformen zu einer neuen einheitlichen Mischanlage entstanden. Vielmehr handelt

es sich bei den Winklerschen Versuchen nur um eine durch eine eigentümliche Gewebsvereinigung entstandene „Hyper- oder Periklinalchimäre". Dasselbe ist bei den angeblichen Pfropfbastarden Cytisus Adami und Crataego mespilus der Fall, wie Strasburger und Baur ebenfalls durch cytologische Untersuchungen nachweisen konnten.

Je unentbehrlicher aber zur richtigen Verwertung der experimentellen Ergebnisse die cytologische Forschung sich erweist, um so mehr erwächst dem Experimentator die Pflicht, seine Schlüsse nicht nur auf die gröberen, makroskopisch sichtbaren Resultate seiner Experimente hin zu ziehen, sondern zu versuchen, sie durch cytologische Beobachtung zu stützen. So habe ich es auch für notwendig gehalten, bei der Kompliziertheit der Resultate, die durch Radiumbestrahlung tierischer Keimzellen gewonnen wurden, eine genaue cytologische Analyse der sich abspielenden Prozesse vorzunehmen. Bevor ich aber zu der Beschreibung der mikroskopischen Beobachtungen übergehe, wird es sich empfehlen, die Hauptergebnisse, die O. Hertwig und ich durch Radiumbestrahlung tierischer Keimzellen erzielt haben, kurz anzuführen.

2. Übersicht über die Ergebnisse, die bisher durch Radiumbestrahlung tierischer Keimzellen gewonnen wurden.

Es wurden von O. Hertwig und mir folgende vier Versuchsreihen an den Geschlechtsprodukten von Rana fusca durchgeführt. Einmal bestrahlten wir Froscheier auf dem Stadium der Zweiteilung mit Radium (A-Serie). In einer zweiten Versuchsanordnung wurden die Samenfäden allein bestrahlt und dann zur Befruchtung normaler Eier verwendet (B-Serie). In der C-Serie dagegen wurden die Eier vor ihrer Befruchtung bestrahlt und dann mit normalem Sperma befruchtet. Endlich wurden in einem vierten Versuch (D-Serie) sowohl Samenfäden als unbefruchtete Eier bestrahlt und mit ihnen die Befruchtung ausgeführt.

Diese so verschieden variierten Experimente führten zu folgenden Ergebnissen:

Durch die B-Serie konnte O. Hertwig zeigen, dass durch den Samenfaden die Radiumschädigung auf das Ei übertragen und das Zeugungsprodukt „radiumkrank" wird. Durch Vergleich der identischen Ergebnisse der B- und C-Serie führte ich sodann

den Nachweis, dass ausschliesslich die Kernsubstanz an der Übertragung der Radiumkrankheit beteiligt ist.

Aus den Resultaten der A- und D-Serie einerseits, der B- und C-Serie andererseits liessen sich nun ferner wichtige Schlüsse auf das Verhalten der radiumgeschädigten Kernsubstanz während der ersten Entwicklungsvorgänge ziehen. Während in der A- und D-Serie die Radiumschädigung proportional der Dauer und Stärke der Radiumbestrahlung anwuchs, so dass die Lebensdauer der radiumkranken Keime sich in einer absteigenden Kurve darstellen liess, ergaben die B- und C-Serie viel kompliziertere Verhältnisse. In beiden Versuchsreihen, wo ja immer nur eine Gamete bestrahlt war, wuchs anfangs auch die Schädigung der Zygote proportional der Intensität der Radiumbestrahlung, nahm aber dann wieder bei noch längerer und stärkerer Radiumeinwirkung, sei es auf den Samen, sei es auf das unbefruchtete Froschei, ab. Diese geringere Radiumschädigung äusserte sich darin, dass nach anfänglichem Sinken die Lebensdauer der Radiumembryonen wieder zunahm, so dass an Stelle einer einfachen absteigenden Kurve eine Kurve mit einem abfallenden und wieder aufsteigenden Schenkel entstand.

Um diese verschiedenen Ergebnisse der A- und D-Serie einerseits, der B- und C-Serie andererseits zu verstehen, muss man berücksichtigen, dass in der A- und D-Serie das gesamte Kernmaterial durch das Radium geschädigt, in der B- und C-Serie dagegen nur die Hälfte des Furchungskernes radiumkrank ist; daher wird in diesen beiden Versuchsreihen der Entwicklungsprozess eine Art Kompromiss zwischen den gesunden und den radiumkranken Kernmassen darstellen. Um die bessere Entwicklungsfähigkeit der Embryonen der B- und C-Serie bei langer Bestrahlung zu erklären, nahmen O. Hertwig und ich an, dass in diesem Fall die Kernsubstanz, sei es die des Samenfadens, sei es die des unbefruchteten Eies, durch die intensive Radiumeinwirkung so geschädigt ist, dass sie mehr oder minder vermehrungsunfähig geworden ist. Durch diese Hypothese wird es erklärlich, warum die Embryonen der B- und C-Serie sich nach einem gewissen Maximum der Schädigung bei noch intensiverer Schädigung einer der beiden Keimzellen wieder besser entwickeln. Denn nun kann, da sich die radiumkranke Komponente an dem Entwicklungsprozess nicht mehr beteiligt, vielmehr bald degene-

riert, die gesunde Kernsubstanz des unbestrahlten Halbkernes wieder besser zur Geltung kommen. Wir kamen also auf Grund unserer Frosch-Experimente zu dem Schluss, dass in den extremen Fällen langer Radiumbestrahlung die Entwicklung in der B-Serie eine vorzugsweise parthenogenetische, in der C-Serie eine androgenetische ist.

Für die Richtigkeit unserer Erklärung der Ergebnisse der B- und C-Serie konnten wir einmal anführen, dass, wie Bataillon gezeigt hat, eine Parthenogenese auch beim Frosch möglich ist. Zweitens ergaben die Untersuchungen von Paula Hertwig am Ei von Ascaris megalocephala, dass die Radiumbestrahlung ohne die Erscheinung der Latenz zu Störungen in der Chromosomenausbildung führt, und dass bei besonders starker Radiumeinwirkung die Kerne unfähig zur Teilung werden und unter den Erscheinungen der Chromatorhexis zugrunde gehen.

Eine ernste Schwierigkeit erwuchs aber unserer Hypothese von der Ausschaltung der intensiv bestrahlten Kernsubstanz aus dem Entwicklungsprozess durch den Ausfall entsprechender Versuche beim Seeigel. Wie O. Hertwig festgestellt hat, gelingt es hier nicht, entsprechende Ergebnisse wie in der B- und C-Serie durch intensive Radiumbestrahlung zu erzielen.

Bei Seeigeleiern, die mit lange bestrahltem Samen befruchtet werden, ergibt sich keine normalere Entwicklung als bei Eiern, die mit kurz bestrahltem Sperma befruchtet worden sind. Im Gegenteil: hier wächst eher die Schädigung mit der Dauer der Bestrahlung. Das zeigt sich besonders an Eiern, die mit 12 bis 15 Stunden lang bestrahltem Samen befruchtet sind, am Verlauf der ersten Teilung. Sie wird anormal, ja weist sogar die Erscheinungen der Knospenfurchung (O. Hertwig) auf.

Nun ist es, wie wohl jeder zugeben wird, ganz unmöglich, anzunehmen, dass beim Frosch 12stündige Radiumbestrahlung den Samenkern teilungsunfähig macht, beim Seeigel dagegen selbst 15stündige Radiumeinwirkung nicht zur Vermehrungsunfähigkeit des Spermakernes führt. Wenn daher unsere Hypothese zu Recht bestehen soll, so muss gefordert werden, dass entweder beim Frosch cytologische Untersuchungen den Nachweis der Ausschaltung des Radiumchromatins von der Entwicklung ergeben, oder dass beim Seeigel gezeigt wird, dass das Spermachromatin durch lange Radiumbestrahlung vermehrungsunfähig geworden ist.

In der folgenden cytologischen Untersuchung soll nun das Verhalten des väterlichen, radiumbestrahlten Chromatins beim Seeigelei während der ersten Entwicklungsprozesse verfolgt und der Nachweis geführt werden, dass entsprechend den bis jetzt nur hypothetisch erschlossenen Vorgängen beim Frosch, sich tatsächlich eine Vermehrungsunfähigkeit des intensiv bestrahlten Spermachromatins auch beim Seeigel ergibt. Zugleich werden wir, worauf ja schon die Knospenfurchung schliessen lässt, einer Fülle von pathologischen Kernen und Kernteilungsfiguren begegnen. Am Schluss soll dann noch auf die Ursachen des verschiedenen Ausfalles der Experimente der B-Serie beim Frosch und Seeigel eingegangen und die beim Seeigel gewonnenen Resultate mit ähnlichen, wenn auch auf anderem Wege von Boveri, Teichmann, Herbst und Kupelwieser erzielten Ergebnissen verglichen werden.

3. Material und Untersuchungsmethoden.

In den Sommern 1910 und 1911 wurde eine Anzahl von Versuchen an den Geschlechtsprodukten von Parechinus miliaris, den ich aus Norderney bezog, in Berlin vorgenommen. An Radiumpräparaten standen mir die ebenfalls von O. Hertwig benutzten zur Verfügung: Radium I = 7,4 mg, Radium II = 5,3 mg, Radium III = 2,0 mg reines Radiumbromid. Ferner benutzte ich noch ein Mesothoriumpräparat, das an Stärke 55 mg reinem Radiumbromid entsprach. Die Samenfäden wurden in der von O. Hertwig genauer beschriebenen Art den Radiumstrahlen ausgesetzt und mit ihnen dann normale Eier befruchtet. Zu jedem Versuch wurde gleichzeitig ein Kontrollversuch mit unbestrahltem Samen angestellt.

Durch portionenweises Konservieren der Eier in bestimmten Zeitabständen erhielt ich ein ziemlich lückenloses Material für die cytologische Untersuchung. Die Fixierung erfolgte in Pikrinessigsäure oder auch in Pikrinessigsublimat. Von dem in Paraffin eingebetteten Eimaterial wurden Schnittserien angefertigt. Die Schnittdicke betrug meist 10 μ, manchmal auch 15 μ. Zur Färbung der Schnitte benutzte ich meist das Heidenhainsche Hämatoxylin mit Differenzieren in Eisenalaun, vereinzelt auch Böhmersches Hämatoxylin und Boraxkarmin, sowie das Biondigemisch.

Ich konnte die Ergebnisse O. Hertwigs (1910) durchaus bestätigen und beobachtete in mehreren Versuchen bei 12- bis 24stündiger Samenbestrahlung, dass von den mit diesem Sperma befruchteten Seeigeleiern ein grosser Teil sich überhaupt nicht normal teilte, sondern nach 2—3stündigem Verharren in ungeteiltem Zustand die Erscheinungen der Knospenfurchung zeigte. In anderen Versuchen dagegen, so einmal bei 12stündiger, ein andermal bei 24stündiger Radiumbestrahlung mit einem gleich starken Präparat wie in den erstgenannten Versuchen, ferner bei 12- bis 15stündiger Mesothoriumeinwirkung, war der Prozentsatz der normal zweigeteilten Eier ein weit grösserer, und nur vereinzelte Eier zeigten die Knospenfurchung. Da die cytologischen Ergebnisse dieser Versuche, wie sich ja schon aus der äusseren Beobachtung schliessen lässt, leichter erklärbar sind, möchte ich mit ihrer Beschreibung beginnen, um dann in einem zweiten Teil die Erscheinung der Knospenfurchung und die ihr zugrunde liegenden Kernverhältnisse auf Grund von Schnittbildern zu besprechen.

4. Erste Gruppe der Versuche: Das Verhalten des mit Radium bestrahlten Spermachromatins in den normal zweigeteilten Eiern.

Im Sommer 1911 wurden mehrere Versuchsreihen mit Mesothoriumbestrahlung der Samenfäden des Seeigels angestellt. Das Mesothoriumpräparat hatte eine Stärke von 55 mg reinem Radiumbromid. In zwei Versuchen wurden die Spermatozoen in der von O. Hertwig (1910) näher beschriebenen Weise 12 Stunden lang bestrahlt, in einem weiteren Versuch 15 Stunden den Mesothoriumstrahlen ausgesetzt. Schliesslich wurden in einem vierten Versuch die Samenfäden 12 Stunden lang mit dem Radiumpräparat II = 5,3 mg reines Radiumbromid bestrahlt. Da die Ergebnisse aller dieser Versuche nahezu identische sind, so möchte ich nur einen von ihnen, der mir das meiste Material für die cytologische Untersuchung geliefert hat, hier näher beschreiben.

Vom 20. Juli 9 Uhr abends bis zum 21. Juli 9 Uhr früh wurde ein Tropfen Samenflüssigkeit von Parechinus miliaris in einem hohlen Objektträger mit Mesothorium bestrahlt und dann zur Befruchtung verwandt. Zum Kontrollversuch, der in keinem Fall unterlassen wurde, benutzte ich Samen desselben Männchens,

der 12 Stunden in der feuchten Kammer konserviert war. Das Eimaterial wurde einem frisch getöteten Tiere entnommen.

Der bestrahlte Samen liess keine Unterschiede von dem unbestrahlten unter dem Mikroskop erkennen. Bei Zusatz von Meerwasser zu der konzentrierten Samenflüssigkeit bewegten sich die bestrahlten Spermatozoen ebenso lebhaft wie die unbestrahlten; demzufolge verlief auch das Eindringen des Samenfadens in das Ei und das Abheben der Dotterhaut in beiden Fällen gleich. Die ersten am lebenden Objekt sichtbaren Unterschiede zwischen den Kontroll- und den Radiumeiern zeigten sich erst bei der Zweiteilung. Denn während diese bei der hohen Sommertemperatur schon nach 50 Minuten bei den Kontrolleiern eintrat, begann bei den Eiern, die mit Radiumsamen befruchtet waren, die Teilung erst nach 1 Stunde bei einer geringen Anzahl. Erst $1^1/_4$ Stunde nach der Befruchtung, während bei der Kontrolle schon alle Eier in vier Blastomeren sich geteilt hatten, waren in dem Radiummaterial etwa 60 % der Eier zweigeteilt; auch fiel auf, dass die Teilhälften manchmal verschieden gross waren; vereinzelt war die erste Teilungsfurche auch nur bis zur Hälfte oder noch weniger tief eingeschnitten.

Nach einer weiteren halben Stunde, während bei dem Kontrollmaterial die Achtteilung sich vollzogen hatte, war die überwiegende Mehrzahl aller befruchteten Eier zweigeteilt; nur einige wenige, die eine Dotterhaut gebildet hatten, also befruchtet waren, blieben noch ungeteilt. Diese Eier zeigten dann später die Erscheinung der Knospenfurchung, auf die wir jedoch in diesem Abschnitt nicht näher eingehen wollen. Bei etwa 10 %, wohl entsprechend den zuerst geteilten Eiern, war die Vierteilung eingetreten; bei anderen 10 % hatte sich nur eine der beiden primären Blastomeren geteilt, die andere war ungeteilt geblieben, so dass dreigeteilte Eier entstanden, die aber schon durch die verschiedene Grösse ihrer Zellen von den durch Polyspermie entstandenen „Simultandreiern" Boveris sich deutlich unterschieden. Da diese dreigeteilten Radiumeier für unsere spätere Betrachtung besonders wichtig sind, so sei ihre weitere Entwicklung hier gleich noch näher beschrieben. Aus ihnen entstanden später fünf- und sechsgeteilte Eier, indem sich die beiden kleineren Blastomeren noch einmal teilten, die grosse, von der Zweiteilung herrührende Blastomere dagegen entweder ungeteilt blieb oder

sich auch teilte. Oft war die Teilung dieser grossen Blastomere auch unregelmässig, indem die Teilebene nur träge oder auch nur bis zur Hälfte durchschnitt. Auf späteren Entwicklungsstadien wurde die verschiedene Teilfähigkeit der von den beiden ersten Blastomeren abstammenden Zellen oft noch deutlicher: so konnte man Blastulae sehen, deren Wand zur Hälfte aus grossen, zur anderen Hälfte aus kleinen Zellen bestand. Durchschnitte von solchen Blastulae sind in den Textfiguren 1 und 2 (Seite 215) abgebildet. Aus manchen derartigen, zuerst dreigeteilten Eiern sah man auch eine Art Zwillingsbildung sich entwickeln, indem die eine Hälfte eine kleinzellige Morula bildete, die andere dagegen erst vier-, zwei-, oder auch noch ungeteilt war. Manchmal zeigte sich auch an der ungeteilt gebliebenen ersten Teilhälfte die Erscheinung der Knospenfurchung.

Alle diese soeben beschriebenen Vorgänge sprachen dafür, dass die eine der beiden ersten Blastomeren durch die radiumbestrahlte Substanz des Samenfadens mehr geschädigt war als die andere, die sich rascher und normaler teilte. Die cytologische Untersuchung, die wir nachher besprechen wollen, gibt eine einfache Erklärung für diese auffällige Erscheinung.

Wenn wir von der Beschreibung dieses interessanten Spezialfalles zu der Besprechung der übrigen radiumkranken Eier zurückkehren, so ist das Bild, das sich uns drei Stunden nach der Befruchtung darbietet, im Vergleich zu dem normalen ein durchaus pathologisches zu nennen. Denn einmal liess sich ein deutliches Zurückbleiben in der Teilungsgeschwindigkeit konstatieren (64-Teilung bei der Kontrolle, höchstens 16-Teilung bei den Radiumeiern). Andererseits wuchs die Differenz zwischen den einzelnen Entwicklungsstadien der Eier desselben Versuches immer mehr an, so dass acht-, vier- und zweigeteilte, sowie die vorhin schon besprochenen, fünf- und sechsgeteilten Eier sich neben normal sechzehngeteilten fanden. Diese ungleichmässige Entwicklung verstärkte sich noch mehr, so dass $4^1/_2$ Stunden nach der Befruchtung in dem Radiummaterial kleinzellige Blastulae, mehr oder minder grobgefurchte Morulastadien, auch erst viergeteilte Eier, dann die erwähnten Zwillingsbildungen zu beobachten waren.

Um 6 Uhr abends, also 9 Stunden nach der Befruchtung, waren die Kontrolleier zu lebhaft flottierenden Blastulae entwickelt. In dem Radiumversuch dagegen waren etwa 20% helle, aber

noch nicht schwimmende Blastulae, daneben aber viele Stereoblastulae, Morulae und auch schon zum Zerfall neigende, unregelmässig gestaltete Zellhaufen von locker aneinander liegenden, verschieden grossen Zellen zu konstatieren.

Am nächsten Morgen war das gesamte Radiummaterial bis auf vereinzelte träge herumschwimmende Stereoblastulae zerfallen. In der Kontrollzucht dagegen hatten sich zahlreiche normale Gastrulae entwickelt, die sich im Verlauf von weiteren 24 Stunden in schöne Plutei mit Kalkstäben umwandelten.

Wenden wir uns nunmehr zur Schilderung der cytologischen Befunde. Wir beginnen mit Stadien, wie wir sie im Eimaterial vorfanden, das 55 Minuten nach der Befruchtung mit Samen fixiert war, der 12 Stunden lang mit Mesothorium bestrahlt wurde. Um diese Zeit waren die Kontrolleier fast alle zweigeteilt. Wie bei allen Entwicklungsprozessen, die von dem normalen abweichen, bei der künstlichen Parthenogenese Loebs und den Bastardierungsexperimenten von Herbst und Kupelwieser, waren auch in unseren Radiumversuchen die einzelnen Eier in ihrer Entwicklung verschieden weit vorgeschritten: daher war es möglich, an Eiern, die zu gleicher Zeit nach der Befruchtung konserviert waren, verschiedene Stadien zu beobachten.

In Fig. 1 (Taf. X) sehen wir ein Ei abgebildet, bei dem man deutlich den weiblichen und männlichen Halbkern unterscheiden kann. In dem weiblichen Halbkern, an dessen beiden Enden die Strahlung deutlich entwickelt ist, hat die Bildung der Chromosomen schon begonnen. Der Spermakern, der zu dieser Zeit unter normalen Verhältnissen mit dem Eikern zu dem einheitlichen Furchungskern verschmolzen sein sollte, liegt noch als kompakte, mit Heidenhainschem Hämatoxylin intensiv schwarz gefärbte Masse abseits, mehr der einen Strahlung genähert. Er ist, wie seine Grösse erkennen lässt, seit seinem Eindringen in das Ei wohl etwas aufgequollen, hat aber seine Gestalt, die er als Spermatozoenkopf hatte, noch deutlich beibehalten.

Ein späteres Stadium ist in Fig. 2 und 3 dargestellt. Die Kernmembran des mütterlichen Halbkerns hat sich aufgelöst, die Chromosomen sind ausgebildet und schicken sich zur Teilung an, resp. sind schon halbiert. Nahe der einen Strahlung, aber noch weiter abseits als in Fig. 1, liegt der an seiner Gestalt

deutlich zu erkennende Samenkern. Weitere Folgestadien sind in den Fig. 4 und 5 von zwei weiteren Eiern abgebildet. Die Eikernchromosomen sind nach den beiden Polen auseinandergewichen. Der Spermakern liegt wieder als kompakter Chromatinklumpen im Bereiche der einen Strahlung.

In Fig. 10 ist die Rekonstruktion der beiden Kernbläschen, die aus den Teilhälften des mütterlichen Halbkerns hervorgegangen sind, erfolgt: der Spermakern liegt in der Nachbarschaft des einen Kerns. Fig. 11 schliesslich führt uns ein zweigeteiltes Ei vor. In seiner einen Blastomere liegt ein einzelner Kern, nämlich der haploide Furchungskern, der aus dem mütterlichen Halbkern entstanden ist. In der anderen Blastomere sind dagegen zwei Kerne zu sehen, der andere haploide Furchungskern und von ihm getrennt der Spermakern, der aber mit Heidenhainschem Hämatoxylin nicht einheitlich schwarz gefärbt ist, sondern hellere und dunklere Partien aufweist, ein Zeichen, dass sein Chromatin eine gewisse Auflockerung erfahren hat.

Etwas anders verläuft die Furchung, wenn der Spermakern bei der ersten Mitose in den Bereich der Spindel zu liegen kommt. Solche Bilder sind in den Fig. 6—8 dargestellt. In Fig. 6 liegen in der Äquatorialplatte einmal die mütterlichen Chromosomen, daneben zweitens der Spermakern als kompakte Chromatinmasse. In der Fig. 8 hat der Samenkern, wahrscheinlich durch den Zug der Spindelfasern, eine etwas gestreckte Form angenommen und dabei auch gleichzeitig eine Auflockerung seines Chromatins erfahren. Zugleich sehen wir aber, was besonders wichtig ist, auch ein von der Norm etwas abweichendes Verhalten der mütterlichen Chromosomen. Einmal lassen sie die gewohnte regelmässige Lage zueinander vermissen, und zweitens finden sich neben den regelrecht ausgebildeten Chromosomen auch einzelne Chromatinkörner.

Ein Bild, das wir ohne Schwierigkeit auf das vorhergehende zurückführen können, ist in Fig. 9 dargestellt. Wir sehen hier zwei Kerne, jeder mit einer Strahlung: sie sind wohl ohne Zweifel dadurch entstanden, dass die Chromosomen des mütterlichen Halbkerns nach den beiden Polen der Spindel auseinandergewichen sind und sich wieder zu je einem bläschenförmigen Kern vereinigt haben. Diese beiden Kerne verbindet nun ein Strang von Chromatinbrocken und in der Mitte dieses Stranges liegt ein etwas in die

Länge gezogener kompakterer Chromatinhaufen. Dieser stellt wohl sicher den Spermakern dar; die Chromatinkörnchen sind teilweise aus ihm entstanden, zum Teil sind es aber auch Reste von Eikernchromosomen. Wir hatten ja schon in Fig. 8 neben typischen Eikernchromosomen auch vereinzelte Chromatinkörner, die sicher dem Eikern entstammten, gesehen. Diese sind nun nicht mit den übrigen Chromosomen mitgewandert, sondern mehr in der Mitte der Spindel liegen geblieben, da der Zug der Spindelfasern auf sie nicht wie auf normale Chromosomen eingewirkt hat.

Weitere Stadien, die sich leicht aus den soeben besprochenen erklären, sind aus einem anderen Versuch (ebenfalls 12stündige Mesothoriumbestrahlung des Samens) in den Fig. 13—15 abgebildet. Sie wurden in einem Material beobachtet, das $1^1/_2$ Stunden nach der Befruchtung konserviert wurde. Hier haben sich die beiden allein vom Eikern abstammenden haploiden Kerne zur zweiten Teilung angeschickt, obgleich in den Fig. 14 und 15 noch nicht einmal die erste Furche ausgebildet ist. Wir sehen zwei parallel gestellte Spindeln, in ihrer Mitte befindet sich je ein Haufen Chromosomen oder Chromatinbrocken. Diese beiden Chromatinanhäufungen werden durch einen Strang von kompaktem Chromatin, einzelnen Chromatinkörnern und Chromosomen verbunden. In der Fig. 13 ist dieser Chromatinstrang durch die Furchungsebene zur Seite gedrängt worden, eine Erscheinung, die auch Baltzer bei der Elimination der artfremden Chromosomen beobachtet hatte.

Nach den vorhin besprochenen Fig. 8 und 9 ist es wohl klar, dass dieser Chromatinstrang auch hier zur Hauptsache aus dem radiumbestrahlten Samenkern, zum geringeren Teil aus versprengten Eikernchromosomen besteht. Besonders schön aber ist an den drei Bildern zu sehen, wie stark auch die Eikernchromosomen verändert sind, die doch gar nicht von den Radiumstrahlen getroffen sind. In Fig. 14 sind sie noch relativ am besten erhalten; man sieht dort noch einige wohl ausgebildete Chromosomen. In der Fig. 15 dagegen ist die typische Chromosomenform ganz geschwunden, an ihrer Stelle finden sich nur zahlreiche runde, mehr oder minder grosse Chromatinkörner. Die Schädigung der mütterlichen Chromosomen, die wir schon bei der ersten Teilung (Fig. 8) konstatieren konnten, hat sich bei der zweiten Mitose noch bedeutend gesteigert. Da nun das

Eimaterial, wie die Kontrolleier durch ihre normale Entwicklung deutlich zeigen, ganz normal war, so kann diese Schädigung des mütterlichen Chromatins allein durch den radiumkranken Spermakern hervorgerufen sein, dessen durch die Radiumstrahlung veränderte Chromatinmasse allein durch die nahe Berührung die normale Chromatinsubstanz so tiefgreifend verändert hat. Wir gehen wohl nicht fehl, wenn wir hier eine Art chemischer Giftwirkung annehmen, hervorgerufen durch eine Substanz, die sich im Samenkern unter der Einwirkung der Radiumstrahlen durch Zerfall gewisser Stoffe gebildet hat. Es ist wohl klar, dass aus diesen Eiern, deren gesamtes Chromatin nun derart geschädigt ist, keine normalen Entwicklungsprodukte, sondern nur unregelmässige Zellhaufen und Stereoblastulae entstehen können.

Wie aber verhalten sich die Eier, bei denen, wie uns die Fig. 2—5, 10, 11 gezeigt haben, der Samenkern gar nicht in nähere Berührung mit dem Eikern kommt, sondern von Anfang an abseits im Protoplasma liegen bleibt und bei der Zweiteilung nur der einen Blastomere zugeteilt wird? Wie die normale Ausbildung der mütterlichen Chromosomen gelehrt hat, ist hier durch die räumliche Trennung eine Giftwirkung auf die normalen Eikernchromosomen, wie sie in den anderen Fällen zutage trat, unterblieben. In der einen Furchungszelle befindet sich also ein normaler Kern mit der haploiden Chromosomenzahl, in der anderen Zelle ebenfalls ein haploider Kern mit dem Spermakern. Die erste Zelle ist also zu einer normalen Entwicklung mit ihrem gesunden haploiden Kern wohl imstande, die Entwicklungsfähigkeit der anderen Blastomere wird davon abhängen, ob der Spermakern noch länger von dem gesunden Furchungskern getrennt im Plasma liegen bleiben, oder ob nicht doch eine Annäherung und Verschmelzung der beiden Kerne mit allen ihren verderblichen Folgen eintreten wird.

Ob die erste Alternative, die völlige Ausschaltung des radiumkranken Spermakerns in unserem Material wirklich erfolgt ist, möchte ich nicht mit Sicherheit entscheiden. Dafür würden die Fälle sprechen, wo sich normal aussehende Blastulae mit überall gleich grossen Wandungszellen gebildet haben. Jedoch haben wir nur in einem Versuch (24stündige Radiumbestrahlung mit Radium I) Stereogastrulae und Stereoplutei erhalten, so

dass wohl eine völlige Ausschaltung des Spermakerns von der gesamten Entwicklung nicht anzunehmen ist.

Dagegen haben wir in unserem Material durch die direkte Beobachtung am lebenden Objekt schon genügend Anhaltspunkte für die Verwirklichung der zweiten Alternative gewonnen. Es sind die Eier, bei denen, wie vorhin (S. 209) beschrieben, die eine der beiden ersten Blastomeren sich normal weiterteilte, die andere dagegen eine mehr oder minder bedeutende Hemmung ihrer Teilungsfähigkeit erkennen liess. Für das Anfangsstadium dieses verschiedenen Verhaltens der beiden Blastomeren führe ich die Fig. 12 an. Hier sehen wir in der einen Teilhälfte eine Spindel mit gut erhaltenen Chromosomen; in der anderen Blastomere ist der haploide Furchungskern noch nicht so weit in seiner Entwicklung fortgeschritten, vielmehr noch bläschenförmig. Dicht neben ihm liegt noch ein zweiter Kern, der sich durch seine wandständigen, klumpigen Chromatinbrocken als der radiumgeschädigte Spermakern zu erkennen gibt. Das ganze Bild spricht dafür, dass in diesem Fall der Spermakern mit dem ersten Furchungskern verschmolzen wird. Die weitere Entwicklung wird dann so vor sich gehen, dass die eine Blastomere sich normal weiterteilt: die andere, deren Kern aus der Vereinigung des ersten Furchungskerns mit dem Spermakern entstanden ist, wird sich in ihrer weiteren Entwicklung so verhalten, wie wir es bei den Eiern beobachten, bei denen der radiumkranke Spermakern sofort mit dem Eikern verschmilzt. Wir werden also, wie es noch in dem nächsten Teil unserer Arbeit näher beschrieben werden soll, eine deutliche Verzögerung der Teilung und Knospenfurchung zu erwarten haben.

Dieser Erwartung entspricht denn auch völlig die Beobachtung am lebenden, wie am fixierten Material. Ich führe in den Textfiguren 1 und 2 (Seite 215) zwei Blastulae vor. Jede von ihnen besteht zur Hälfte aus kleinen Zellen mit normalen, teilweise in regelrechter Mitose befindlichen Kernen. Ohne Zweifel sind es Abkömmlinge der ersten Furchungszelle, die nur gesundes, vom Eikern stammendes Kernmaterial erhalten hatte. Ein weiterer Umstand, der für ihre gemeinsame Abstammung von der ersten Blastomere spricht, ist die Erscheinung, dass alle Kerne der einen Hälfte, wie besonders auf Textfig. 2 zu sehen, sich gerade in Mitose befinden. Die andere Hälfte der Blastulawand dagegen

wird durch einige wenige grosse Zellen gebildet, die durch die Riesenkerne ihre Abstammung von radiumkranken Kernsubstanzen nur zu deutlich verraten. (Vergleiche auch ferner die Textfig. 9.)

Auf die theoretische Bedeutung der soeben besprochenen Befunde und auf den Vergleich mit ähnlichen, in der Literatur beschriebenen Fällen von partieller Befruchtung, wie Boveri die

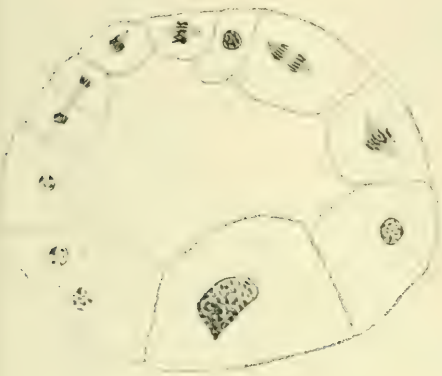


Fig. 1.

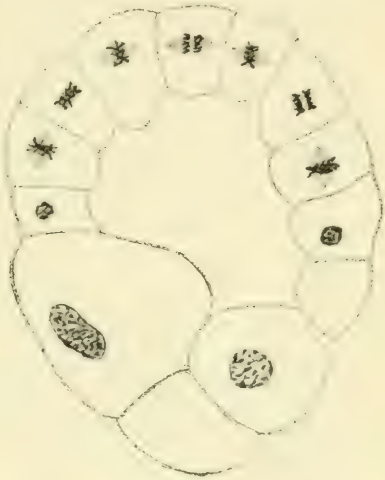


Fig. 2.

Zwei Schnitte durch Seeigeleier, 4½ Stunden nach ihrer Befruchtung mit Samen, der 12 Stunden lang mit Mesothorium = 55 mg reines Radiumbromid, bestrahlt wurde. Zeiss' Homog. Immersion 1/12. Tubuslänge 160, Okular 2. Höhe des Objekttisches.

Erscheinung bezeichnet, dass der Spermakern erst mit einem Furchungskern kopuliert, gehe ich noch später ein. Jetzt will ich erst die Vorgänge, die in ihrem Verlauf zur Knospenfurchung führen, näher auf Grund cytologischer Untersuchungen schildern.

5. Zweite Gruppe der Versuche. Das Verhalten des mit Radium bestrahlten Spermachromatins in den Eiern, die die Erscheinungen der Knospenfurchung zeigten.

Die Erscheinung, dass Seeigeleier, die mit 12—16 Stunden lang bestrahltem Samen befruchtet werden, anstatt sich normal in zwei Blastomeren zu furchen, nach langer Verzögerung der ersten Teilung in Knospenfurchung eintreten, habe ich in zwei

Versuchen, die mir für die cytologische Untersuchung das Material lieferten, beobachtet. O. Hertwig hat denselben Vorgang auf Grund von vier verschiedenen Experimenten schon in seiner ersten Arbeit über die Radiumstrahlen (1910) beschrieben. Der Befund am lebenden Objekt sei hier in bezug auf die beiden von mir beobachteten Versuche kurz mitgeteilt.

Am 24. Juli 1910 wurden Seeigeleier um $9^1/_2$ Uhr früh einmal mit Samen, der 15 Stunden mit Radium I. in einem weiteren Versuch mit Samen, der 15 Stunden zwischen den Radiumkapseln II und III bestrahlt worden war, befruchtet. Zur Kontrollbefruchtung diente Samen desselben Männchens, der 15 Stunden in der feuchten Kammer aufbewahrt war. In allen drei Eiportionen erfolgte die Abhebung der Dotterhaut ganz normal. Nach 1 Stunde waren die Kontrolleier normal zweigeteilt, nach einer weiteren Stunde war überall die Achtteilung erfolgt. Um diese Zeit, 2 Stunden nach der Befruchtung, waren von den Radiumeiern nur ganz vereinzelte Eier zweigeteilt, die Mehrzahl war noch ungeteilt und liess bei mikroskopischer Betrachtung im lebenden Zustand noch einen deutlichen, bläschenförmigen, ovalen Kern mit zwei Strahlensystemen an beiden Enden erkennen.

Nach einer weiteren Stunde waren erst wenige Eier viergeteilt, die meisten besassen immer noch einen grossen, bläschenförmigen Kern mit zwei bis vier Strahlungen: bei einzelnen Eiern begann die Knospenfurchung, die im Verlauf der nächsten Stunde (4 Stunden nach der Befruchtung) bei den meisten der bis dahin noch ungeteilten Eier auftrat. Zu dieser Zeit waren die Kontrolleier schon in Morulae umgewandelt. Ich schildere den Vorgang der Knospenfurchung mit den Worten O. Hertwigs: „An verschiedenen Stellen der Oberfläche des Eies schneiden unregelmässige Furchen mehr oder minder tief in den Dotter ein, ohne ihn vollständig zu zerlegen. Das Ei ist daher mit grösseren und kleineren kugligen Vorwölbungen bedeckt, die in ihrem Inneren Strahlensysteme einschliessen, aber nach der Eimitte zu noch untereinander durch breite Substanzbrücken zusammenhängen. Später führt die Knospenfurchung zu einer Zerlegung des Eies in eine Anzahl von Embryonalzellen."

Um 6 Uhr abends, also 9 Stunden nach der Befruchtung, boten die Radiumkulturen folgendes Bild dar: Nur ganz ver-

einzelte Eier waren in der Umwandlung zu Blastulae begriffen, jedoch waren die Zellen der Blastulawand verschieden gross. Die Mehrzahl der Eier hatte sich in unregelmässige Haufen von verschieden grossen, oft nur locker miteinander verbundenen Zellen umgewandelt. Einige dieser Zellhaufen liessen schon den Beginn ihres Zerfalles erkennen, indem sich einzelne Zellen an der Oberfläche ablösten. In der Kontrollzucht waren um diese Zeit schon zahlreiche, flimmernde Blastulae vorhanden.

Am nächsten Tag waren die Kontrolltiere zu Gastrulae entwickelt, aus denen sich bei der Weiterzucht schöne Plutei mit Kalknadeln bildeten. Das Radiummaterial dagegen war in beiden Versuchen zum grossen Teil zerfallen. Zahlreiche grössere und kleinere durchsichtige Zellkugeln bedeckten in Masse den Boden des Zuchtgefässes. Nur ganz vereinzelte Stereoblastulae mit trübem Gallertkern schwammen träge am Boden herum und gingen im Laufe des Tages auch zugrunde.

Die mikroskopische Untersuchung des in Abständen von $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde fixierten Materials ergab auf Schnitten folgende Bilder: Zunächst konnte festgestellt werden, dass alle Eier monosperm befruchtet waren, so dass die Knospenfurchung nicht etwa auf Polyspermie zurückgeführt werden kann. Bei den Radiumeiern zeigte die Untersuchung $^3/_4$ Stunden nach der Befruchtung, dass der Samenkern mit seiner deutlichen Strahlung sich dem Eikern dicht genähert hat (Fig. 16, Taf. XI), ohne jedoch wie bei der Kontrolle schon mit ihm verschmolzen zu sein. Als ersten Unterschied zwischen dem normalen und dem Radiummaterial konstatieren wir also eine deutliche Verzögerung der Verschmelzung der beiden Vorkerne, eine Erscheinung, die wir ja auch, zum Teil noch viel deutlicher, in der im ersten Teil besprochenen Versuchsreihe beobachtet haben.

Bei Eiern, die $^1/_4$ Stunde später fixiert waren, ist die Verschmelzung der beiden Kerne zu einem einheitlichen Kern erfolgt. In den Fig. 17—20 (Taf. XI) können wir noch das Spermachromatin teils als kompakte Masse (Fig. 17 und 18), teils schon aufgelockert (Fig. 19 und 20), aber immer wandständig deutlich von der Masse des Eikerns, in dem das Chromatin schon zu Körnchenreihen angeordnet hervortritt, unterscheiden. Die gleichzeitig fixierten Kontrolleier zeigten schon die normal ausgebildete Spindelfigur mit den in der Äquatorialplatte angeordneten Chromosomen.

Also abweichend von den in der ersten Versuchsreihe besprochenen Experimenten erfolgt hier fast ausnahmslos die Verschmelzung des radiumbestrahlten Spermakerns mit dem Eikern vor der ersten Mitose. Wir werden nicht fehl gehen, wenn wir die Differenzen in den Versuchsergebnissen der beiden Gruppen von Experimenten auf dieses verschiedene Verhalten des Samenkerns zum Eikern zurückführen.

Verfolgen wir nun weiter das Schicksal des aus der Vereinigung der beiden Kerne gebildeten Furchungskerns, so können wir auf Fig. 21 sehen, dass $^1/_4$ Stunde später, zu einer Zeit, wo die Kontrolleier schon zweigeteilt waren, der Furchungskern sich etwas in die Länge gestreckt hat; an seinen beiden Enden sind schwache Strahlungen entwickelt, die Stelle, wo der Spermakern mit dem Eikern verschmolzen war, ist noch daran kenntlich, dass hier eine dichtere Anhäufung von Chromatinfäden sich findet. Ferner sind, unabhängig von dem Spermachromatin, in der Masse des ursprünglichen Eikerns (vgl. auch Fig. 19) drei mit Heidenhainschem Hämatoxylin sich tiefschwarz tingierende, mit Biondilösung sich ebenso wie der gesamte Kern rot färbende Körner aufgetreten, die in ihrem Innern eine Art Vacuole aufweisen.

Bei unseren radiumkranken Eiern wächst nun der Kern, dessen Teilungsfähigkeit durch die radiumgeschädigten väterlichen Chromatinmassen offenbar sehr gelitten hat, zu ganz gewaltigen Dimensionen an und gleichzeitig nimmt die Zahl und die Masse der soeben besprochenen Körnchen, die meist eine periphere Lage einnehmen, stark zu. Ich glaube nach diesem Verhalten, sowie nach ihrem ganzen Aussehen, diese Körnchen als Nukleolen deuten zu dürfen. Beobachtet man doch auch sonst an Kernen, deren Teilungsfähigkeit herabgesetzt ist, die aber einen lebhaften Stoffwechsel haben, wie z. B. an den Eikernen bei der Wachstumsperiode der Eier, eine oft bedeutende Ansammlung von Nukleolen. Auch in unserem Falle können wir also, wie Heidenhain sagt, „eine Parallelität zwischen den Prozessen der Assimilation und Vermehrung des Chromatins einerseits, der Abscheidung und Massenzunahme der Nukleolarsubstanz andererseits“ beobachten.

In den Fig. 22 und 23 sehen wir zwei Kerne abgebildet, die die Volumenvergrösserung des Kerns und die Massenzunahme der Nukleolarsubstanz besonders schön veranschaulichen. Sie sind

$1^1/_2$ Stunden nach der Befruchtung in dem Material in grosser Zahl anzutreffen. Gleichzeitig fällt uns aber noch auf, dass der Kern eine deutliche Längsstreckung erfahren hat: an seinen beiden am weitesten voneinander entfernten Enden liegt je eine Strahlung. Es hat nach diesen Bildern fast den Anschein, als bereite sich eine der Amitose ähnliche Teilung des Kernes vor. In den meisten Fällen jedoch nimmt der Kern im weiteren Verlauf wieder mehr eine kugelige Form an (Fig. 25). Nur ganz vereinzelt beobachtet man Bilder, wie dasjenige in Fig. 24. Es stellt ein Ei dar, das $1^3/_4$ Stunden nach der Befruchtung fixiert wurde. Hier sieht man an Stelle des einen Kerns zwei Kerne, einen grösseren und einen kleineren liegen, die durch eine feine Substanzbrücke noch miteinander verbunden sind. In diesem Fall scheint also tatsächlich ohne Ausbildung von Chromosomen und Spindelfasern eine Kernteilung stattgefunden zu haben.

Die überwiegende Mehrzahl der Eier zeigt aber zwei Stunden nach der Befruchtung, zu einer Zeit, wo die Kontrolleier schon achtgeteilt sind, noch immer einen grossen einheitlichen, jetzt wieder mehr kugligen Kern, wie es in Fig. 25 zu sehen ist.

Im Verlaufe der nächsten 1—2 Stunden erfahren diese Riesenkerne, die die Grösse des Keimbläschens im unreifen Seeigelei erreichen, bemerkenswerte Veränderungen. Zunächst beobachtet man, bei den einen Eiern früher, bei den anderen später, ein langsames Schwinden der Nukleolen; an Stelle der zwei schwachen treten drei, vier, ja auch fünf allmählich immer deutlicher ausgeprägte Strahlungen auf. Die Kernmembran schwindet, wir erhalten Bilder, wie sie in Fig. 26 und 27 dargestellt sind. Wir sehen das Chromatin in den Riesenkernen noch zum grossen Teil in feinkörnigen Strängen angeordnet, aber wir erkennen auch schon einige deutliche Chromosomen. In der Mitte jedes Kernes befinden sich zwei bis drei grosse, kompakte, mit Heidenhainschem Hämatoxylin sich intensiv schwarzfärbende Massen. Weitere Stadien der Auflösung der Riesenkerne und der Bildung mehrpoliger Mitosen sind in den Fig. 28—32 (Taf. XI), 35, 36 (Taf. XII) abgebildet. Wir sehen hier einmal eine zweipolige Figur (Fig. 28) als seltene Ausnahme, dann mehrere Fälle von drei-, vier- und fünfpoligen Mitosen. Zwischen den einzelnen Spindeln, oder auch in der Mitte der Gesamtfigur finden wir wohlausgebildete, teilweise auffällig in ihrer Grösse differierende Chromo-

somen (siehe besonders in Fig. 30). Daneben erblicken wir Chromatinkörner in wechselnder Zahl, dann auch die schon vorhin erwähnten grossen, kompakten, schwarzgefärbten Klumpen. Ferner ist das gesamte Plasma zwischen den Spindeln auffällig bei der Hämatoxylinfärbung dunkel gekörnt, was in den Abbildungen nicht besonders eingezeichnet ist.

Was zunächst nun die Zahl der Chromosomen betrifft, so ist sie durchaus nicht gross zu nennen und entspricht ungefähr nur der Zahl der haploiden Eikernchromosomen. Es hat also trotz der langen, seit der Befruchtung verflossenen Zeit, keine Zunahme der Chromosomenzahl stattgefunden. Das meiste produzierte Chromatin scheint teils in Form der kleinen Körnchen vorhanden zu sein, teils hat es sich auch im Plasma, das dadurch seine Färbbarkeit erhalten hat, wieder gelöst. Über die Herkunft der intensiv gefärbten, grossen Klumpen können wir nur Vermutungen äussern: einmal werden sie wohl Reste von Nukleolarsubstanz enthalten, andererseits wäre auch daran zu denken, dass zu ihrer Bildung das väterliche Radiumchromatin beigetragen hat.

Wir hatten ja das väterliche Chromatin zuletzt in der Fig. 21 von dem Eikern unterscheiden können, wo es sich in Chromatinstränge auflöste. In den nächsten Stadien war es unmöglich, das väterliche Chromatin in dem Furchungskern zu identifizieren. Es fragt sich nun: können wir jetzt während der multipolaren Mitose das väterliche Radiumchromatin von dem mütterlichen, unbestrahlten Chromatin trennen?

Dass die in den multipolaren Mitosen gut ausgeprägten Chromosomen nicht von dem Radiumchromatin gebildet sind, das glaube ich ziemlich sicher behaupten zu können. Denn einmal spricht hiergegen die in dem ersten Teil unserer Arbeit gemachte Erfahrung, dass das intensiv bestrahlte väterliche Chromatin nicht mehr zur Bildung richtiger Chromosomen imstande ist; zweitens lässt sich zur Stütze unserer Behauptung die Tatsache anführen, dass die Chromosomenzahl der multipolaren Mitosebilder ungefähr der Zahl der mütterlichen, ursprünglich im Eikern vorhandenen Chromosomen entspricht, dass aber sicher nicht die doppelte Anzahl vorhanden ist, wie es doch bei Beteiligung des gesamten Chromatinmaterials des Furchungskerns an der Chromosomenausbildung notwendig wäre. Leider lässt sich mit Sicherheit nicht mehr über

das Schicksal des Radiumchromatins sagen: alles andere sind nur Vermutungen. Aber sei es nun, dass das Radiumchromatin in den kleinen Chromatinkörnern, sei es, dass es in den grossen, kompakten, schwarzgefärbten Massen enthalten ist, sicher ist, dass es durch die multipolare Mitose aus den Bestandteilen des Kerns ausgeschieden wird. Denn wie uns die Fig. 37 und 38 (Taf. XII), die wir als Folgestadien der multipolaren Mitose deuten, zeigen, werden nur die mehr oder minder normal ausgebildeten, vom Eikern stammenden Chromosomen zur Bildung der neuentstehenden Kernbläschen verwandt, während die grossen, kompakten Massen und auch zum grossen Teil die Chromatinkörner ausserhalb der neu entstandenen Kerne in das Protoplasma zu liegen kommen. Zum Beweise führe ich die Fig. 37 und 38 an. Entsprechend der Anzahl der Spindelpole sind einmal drei, in dem anderen Falle vier kleine Kernbläschen entstanden: in der Mitte der Figur sieht man noch die Reste der grossen, schwarzgefärbten Massen und die kleinen Chromatinkörner liegen.

Es sind nunmehr durch die multipolare Mitose der Riesenkerne Eier entstanden, die in ihrem noch ungeteilten Protoplasma mehrere Kerne enthalten. Damit sind Verhältnisse geschaffen, wie sie in ähnlicher Art durch verschiedenartige, meist chemische, experimentelle Eingriffe hervorgerufen werden können.

O. und R. Hertwig hemmten durch Chinin und Chloralhydrat die erste Mitose des befruchteten Seeigeleies und beobachteten dann das Auftreten von mehreren Kernen in dem noch ungeteilten Ei, später führte dann die Knospenfurchung die Zerlegung des Eies in einzelne Blastomeren herbei. Godlewski wies nach, „dass durch Einwirkung von CO_2haltigem Seewasser auf befruchtete Echinideneier die Zelleibsteilung bei der Furchung gehemmt wird und infolgedessen zahlreiche Kerne im einheitlichen Plasmaterritorium des Keimes liegen". Kostanecki regte Maktraeier durch KCl-Lösung zur künstlichen Parthenogenese an. Es erfolgten viele Kernteilungen, das Eiplasma blieb jedoch lange Zeit ungeteilt.

Godlewski und Kostanecki haben das weitere Schicksal dieser ungefurchten, mehrkernigen Eier genauer cytologisch untersucht und festgestellt, dass „die beieinander liegenden Kerne oft zu grösseren einheitlichen Kernen, Synkarionten, wie Strasburger diese Kerne genannt hat, verschmelzen können". Multipolare Mitosen, die sich durch ihren Reichtum an Chromosomen

auszeichnen, führen später wieder zu einer Zerlegung dieser Riesenkerne in eine grössere Anzahl kleinerer Kerne. Gleichzeitig wird das Ei durch das Auftreten unregelmässiger Furchung in eine Anzahl ungleich grosser Blastomeren geteilt.

Dieselben, soeben geschilderten Vorgänge spielen sich nun auch an unseren, durch die multipolare Mitose mehrkernig gewordenen Radiumeiern ab. Einzelne Kerne verschmelzen wieder miteinander, und an diesen Synkarionten bilden sich dann wieder pluripolare Mitosen (Taf. XI, Fig. 33 und 34), die sich aber von den vorhin besprochenen dadurch in prinzipieller Weise unterscheiden, dass sie einen grossen Reichtum an Chromosomen, dagegen nicht die kompakten, intensiv schwarzgefärbten Massen und die anderen chromatischen Zerfallsprodukte aufweisen. In der Fig. 33 sind ausserdem noch zwei unabhängig von dem Synkarion in Mitose befindliche, chromosomenarme Einzelkerne zu sehen: ausserdem finden sich im Plasma noch zahlreiche Strahlungen. In Fig. 34 fällt einmal die ganz verschiedene Grösse der einzelnen Chromosomen auf, zweitens sieht man an der unregelmässigen Eibegrenzung mit ihren kugligen Vorwölbungen den Beginn der Knospenfurchung.

Auch nachdem die Knospenfurchung das Ei in eine Anzahl Blastomeren zerlegt hat, kann man in dem unregelmässig gefurchten Eimaterial Riesenkerne und multipolare, an Chromosomen reiche Mitosen in grosser Zahl auffinden. Die Textfiguren 3—9

Fig. 3.

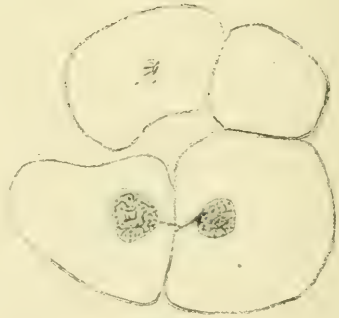


Fig. 4.

Zwei Schnitte durch Eier, 4¼ Stunden nach Befruchtung mit Samen, der 16 Stunden mit Radium I = 7.4 mg reines Radiumbromid, bestrahlt wurde. Zeiss' Homog. Immersion 1/12. Tubuslänge 160, Okular 4. Höhe des Objekttisches. Auf ½ verkleinert.

S. 222—226 und die Fig. 39 und 40 auf Taf. XII sollen diese Verhältnisse veranschaulichen. Besonders schön lassen die in den Textfig. 3 und 6 abgebildeten Riesenkerne ihre Entstehung aus der Verschmelzung mehrerer Einzelkerne durch ihren lappigen Bau erkennen. Bei den Mitosen (Textfig. 5) sind wieder die

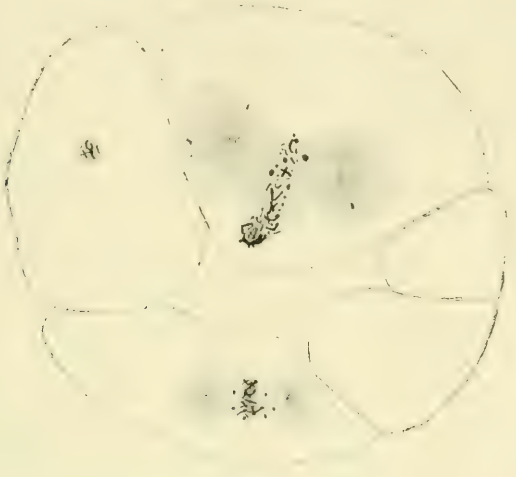


Fig. 5.

Schnitt durch ein Ei. $3^3/_4$ Stunden nach Befruchtung mit Samen, der 16 Stunden mit Radium II = 5,3 mg und Radium III = 2 mg reines Radiumbromid, bestrahlt wurde. Zeiss' Homog. Immers. $^1/_{12}$. Tubuslänge 160, Okular 4. Höhe des Objekttisches. Auf $^2/_3$ verkleinert.

Grössenunterschiede der einzelnen Chromosomen besonders beachtenswert. Das Auftreten abnorm grosser Chromosomen wurde auch von Godlewski und Kostanecki in ihren Untersuchungen beschrieben.

Wir haben also in unserer Arbeit zwei prinzipiell verschiedene Entstehungsarten von Riesenkernen kennen gelernt. Im Anfang der Entwicklung der radiumkranken Eier kommt es zur Bildung von grossen Kernen durch allmähliches Anwachsen der Kernmasse, hervorgerufen durch Ausbleiben der normal einsetzenden Mitose. Wir haben diese Hemmung der Kernteilungsprozesse auf die Verbindung des Eikerns mit dem radiumkranken Spermakern zurückführen können. An diesen Riesenkernen entstand dann eine multipolare Teilungsfigur, die zur Zerlegung des Riesenkernes in einzelne kleinere Teilkerne

führte. Besonders bemerkenswert war aber, dass aus dem Riesenkern nicht mehr Chromosomen hervorgingen als ursprünglich im Eikern vorhanden gewesen waren. Das überschüssig produzierte Kernmaterial wurde nicht zur Bildung von Chromosomen benutzt, es löste sich vielmehr ebenso wie das radiumbestrahlte Spermachromatin im Eiprotoplasma auf. Es erinnert dieses Verhalten der Riesenkerne an dasjenige der Keimbläschen tierischer Eier, die trotz ihrer gewaltigen Volumzunahme bei dem Eiwachstum auch an der Normalzahl ihrer Chromosomen festhalten.

Eine zweite Form der Bildung von Riesenkernen findet sich dann bei der weiteren Entwicklung der Radiumeier. Hier spielt, nachdem das Radiumchromatin aus dem Kern eliminiert und im Plasma degeneriert ist, die Verzögerung der Mitose und der Ausbildung der Chromosomen keine Rolle mehr. Die Entstehung von Riesenkernen erfolgt hier vielmehr durch Verschmelzung einzelner Furchungskerne zu einem einheitlichen Kern. Aus diesen Riesenkernen oder Synkarionten können dann auch multipolare Mitosenbilder entstehen, die sich aber von den im ersten Fall besprochenen prinzipiell dadurch unterscheiden, dass hier die Chromosomenzahl eine viel grössere ist, entsprechend der Zahl der Chromosomen, die zur Bildung des Synkarion beigetragen haben.

Wir erblicken in diesen Befunden eine schöne Illustration des von Boveri aufgestellten Grundgesetzes der Zahlenkonstanz der Chromosomen, „dass die Zahl der aus einem ruhenden Kern hervorgehenden chromatischen Elemente ausschliesslich davon abhängig ist, aus wie vielen Elementen dieser Kern sich aufgebaut hat“. Trotz der um mehrere Stunden verzögerten Mitose und des gewaltigen Anwachsens des Kernes sind die Eikernchromosomen nicht imstande gewesen, das Kernmaterial zur Bildung neuer Chromosomen zu verwenden.

Über das weitere Schicksal der radiumkranken Eier ist nicht mehr viel zu sagen. Schon um 6 Uhr abends machten sich ja deutliche Zerfallserscheinungen geltend. Ich verweise auf die Fig. 39 und 40, Taf. XII und die Textfig. 3—9, welche Bilder von den besser erhaltenen Keimen vorführen sollen. An ihnen ist zum Teil das lockere Zusammenliegen der einzelnen Furchungszellen deutlich ausgesprochen. Ferner kann man erkennen, dass

die einzelnen Blastomeren schon frühzeitig, wohl begünstigt durch das lockere Beisammenliegen, das Bestreben gehabt haben, sich unabhängig voneinander zu entwickeln. So sieht man in Textfig. 7

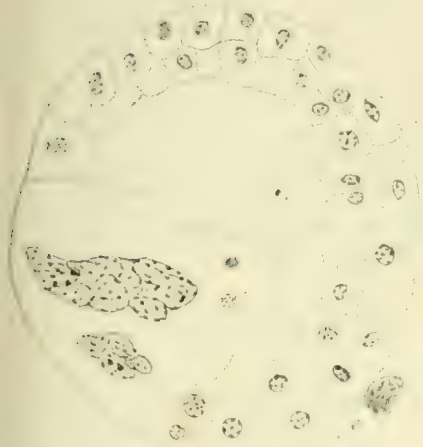


Fig. 6.

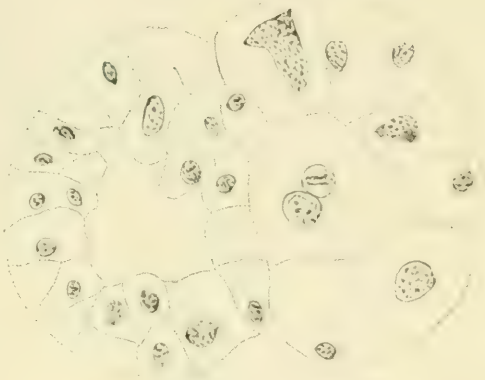


Fig. 7.

eine Art Zwillingsbildung, die eine Hälfte mit relativ kleinen Zellen und eigener Furchungshöhle, die andere Hälfte mit grossen, Riesenkernen enthaltenden Zellen. In der Textfig. 8 sehen wir

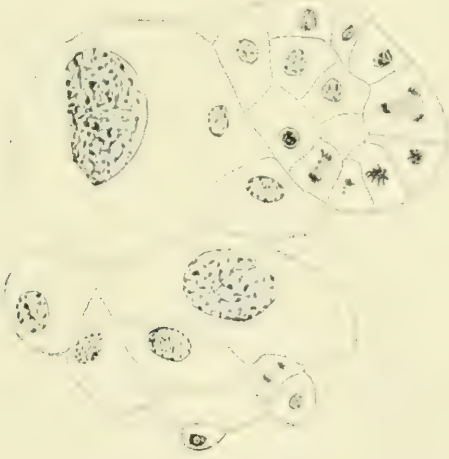


Fig. 8.

Fig. 6—8. Schnitte durch Eier, 8 3/4 Stunden nach Befruchtung mit Samen, der 16 Stunden mit Radium I bestrahlt wurde. Zeiss' Homog. Immersion 1/12. Tubuslänge 160, Okular 2. Höhe des Objekttisches.

noch ein anderes Beispiel, indem aus drei Furchungszellen ziemlich unabhängig voneinander drei Zellhaufen entstanden sind, die sich nur locker mit ihren Seitenflächen berühren.

Die Entstehung der in den Fig. 39 und 40 (Taf. XII), und der in Textfig. 9 abgebildeten Blastulae möchte ich dagegen anders

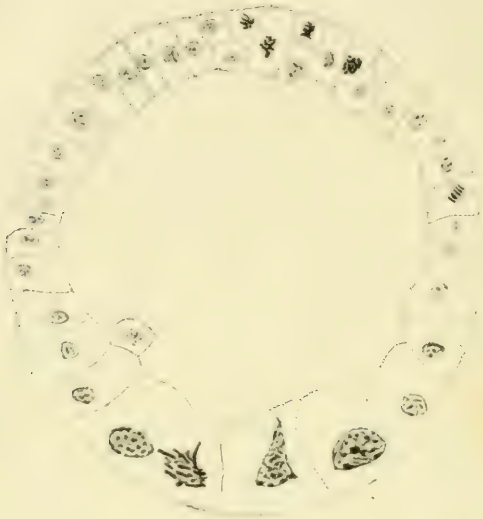


Fig. 9.

Schnitt durch ein Ei, $8^3/_4$ Stunden nach Befruchtung mit Samen, der 16 Stunden mit Radium I bestrahlt wurde. Zeiss' Homog. Immersion $^1/_{12}$. Tubuslänge 160, Okular 2. Höhe des Objekttisches.

erklären. In den Fig. 39 und 40 sehen wir zwei Blastulae abgebildet; ihren einen Teil bildet je eine grosse ungeteilte Zelle mit mehreren multipolaren Mitosen: ihr anderer Teil besteht aus kleinen Zellen mit ziemlich normalen Kernen. In der Textfig. 9 ist ferner eine ziemlich gut erhaltene Blastula zu sehen. Die eine Hälfte der Furchungshöhle wird von kleinen Zellen mit normalen Kernen, die andere Hälfte dagegen von grossen Zellen mit Riesenkernen begrenzt. Wir werden durch diese drei Figuren an die in den Textfig. 1 und 2 abgebildeten Keime der ersten Versuchsgruppe erinnert, die ja, wie wir nachwiesen, dadurch entstanden waren, dass das väterliche Radiumchromatin nur in die eine der beiden ersten Blastomeren zu liegen kam und hier erst mit dem Eikernderivat verschmolz. Auch für die drei soeben

erwähnten Furchungsstadien wird wohl eine gleiche Bildungsweise anzunehmen sein. Denn wie S. 216 erwähnt wurde, teilten sich auch in der hier besprochenen zweiten Gruppe von Experimenten vereinzelte Eier mit geringer Verzögerung gegen die Kontrolleier normal in zwei Blastomeren. Von diesen normal zweigeteilten Eiern stammen daher höchstwahrscheinlich diese drei relativ gut erhaltenen Blastulae ab.

6. Zusammenfassung der experimentell-cytologischen Ergebnisse: Der Kern als Überträger der Radiumschädigung. Die Vermehrungsunfähigkeit des intensiv bestrahlten Spermachromatins.

Wenn wir nunmehr die Ergebnisse der beiden Versuchsgruppen zusammenfassen, so können wir wohl sagen, dass die genauere cytologische Untersuchung eine vollständige Bestätigung der von O. Hertwig und mir aufgestellten Theorie ergeben hat, dass die Radiumschädigung nur durch den Samenkern auf das Ei übertragen wird, und dass intensive Radiumbestrahlung zu einer Vermehrungsunfähigkeit des Spermachromatins führt.

Alle die verschiedenen Störungen der Eientwicklung können wir, wie sich leicht nachweisen lässt, allein auf eine Schädigung der Samenkernsubstanz zurückführen. So könnte man vielleicht bei der Hemmung der ersten Mitose, mit Bildung von Riesenkernen, wie wir es in der zweiten Gruppe der Experimente beobachtet haben, an eine Schädigung der Centrosomen durch die Radiumbestrahlung denken. Diese Annahme wird aber sofort hinfällig, wenn wir die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe berücksichtigen, wo das Spermacentrosoma allein ohne den Spermakern sich dem Eikern anlegt und die Teilung desselben ohne nennenswerte Verzögerung veranlasst. Es kann daher wohl keinem Zweifel unterliegen, dass allein die Verschmelzung des Spermakerns mit dem Eikern die Hemmung der ersten Teilung, die Bildung von Riesenkernen, die pluripolare Mitose und die Knospenfurchung zur Folge hat.

Wie hier die radiumgeschädigte Kernsubstanz einen so weitgehenden Einfluss auf die Kernteilung ausübt, so haben wir in der ersten Versuchsreihe Fälle kennen gelernt, wo die gesunden

Eikernchromosomen durch die Berührung mit dem radiumkranken Spermakern eine tiefgreifende Veränderung ihrer Form erleiden, indem die stäbchenförmigen Chromosomen zu kleinen Chromatinbrocken zerfallen, genau so, als wären sie selbst von den Radiumstrahlen direkt getroffen worden. Auch hier kann leicht der Beweis geführt werden, dass es allein der Spermakern ist, der diese Schädigung veranlasst. Denn wie andere Fälle uns gezeigt haben, behalten die Eikernchromosomen ihre normale Beschaffenheit bei und liefern normale haploide Furchungskerne, wenn der radiumgeschädigte Spermakern nicht in direkte Berührung mit ihnen kommt, sondern abseits im Plasma liegen bleibt.

Wenn wir so schon die grosse Veränderung des Spermakerns in seiner Konstitution durch die Wirkungen, die er auf den gesunden Eikern ausübt, deutlich ersehen können, so hat andererseits auch die direkte morphologische Beobachtung des Spermakerns im Ei sichere Zeichen für seine intensive Schädigung durch die Radiumbestrahlung erbracht. Wir haben zeigen können, dass der Samenkern in vielen Fällen nicht wie normal mit dem Eikern verschmilzt, sondern abseits im Plasma liegen bleibt und seine kompakte Beschaffenheit lange Zeit bewahrt; dass ferner sein Chromatin nicht imstande ist, die Form von Chromosomen anzunehmen, und dass es fast ganz vermehrungsunfähig geworden ist.

So entspricht das Bild, das wir von dem radiumkranken Spermakern und seiner Wirkung auf das Seeigelei erhalten haben, fast genau den theoretischen Vorstellungen, die ich, bevor ich diese cytologischen Untersuchungen angestellt habe, lediglich auf Grund der experimentellen Ergebnisse beim Frosch vor einem Jahre geäussert habe: „Wenn das Spermachromatin durch die Radiumbestrahlung zum völligen Zerfall gebracht ist, wird der Samenfaden wegen der geringen Schädigung seines kontraktilen Schwanzes noch in das Ei eindringen und eine Entwicklung desselben anregen. In diesem extremen Falle wird aber das degenerierte, vermehrungsunfähige Spermachromatin nicht imstande sein, den Entwicklungsprozess zu beeinflussen: Es wird also eine normale Entwicklung mit haploider Kernsubstanz resultieren. Bei etwas geringerer Schädigung wird es vielleicht noch zu einer Kopulation der beiden Kerne kommen. Bei der ersten Teilung wird aber der Radiumkern, sei es infolge Verzögerung des Wachstums oder mangelhafter Chromosomenausbildung, nicht

auf die Furchungszellen verteilt. Dabei ist es möglich, dass die Teilung der normalen Kernsubstanz regelmässig verläuft, oder dass durch die unregelmässige Teilung des Radiumchromatins auch die normale Kernsubstanz ungünstig beeinflusst wird. Hieraus können dann auch wieder Störungen der normalen Entwicklung sich ergeben. Wir können wohl sagen, je früher die Elimination des Radiumchromatins erfolgt, um so wahrscheinlicher wird die normale Entwicklung."

Diese durch Vergleich der B- und C-Serie und durch Beobachtung der Kurvenbildung beim Frosch gewonnenen theoretischen Vorstellungen finden also durch die tatsächlich cytologisch beobachteten Vorgänge beim Seeigel ihre volle Bestätigung. — Wie aber erklären sich die in der Einleitung hervorgehobenen Unterschiede der Frosch- und Seeigelexperimente? Beim Seeigel scheint, wenigstens bei den von mir bisher beobachteten Fällen, eine völlige Ausschaltung des Radiumchromatins von der Entwicklung nicht möglich zu sein, spätestens auf dem Zweizellenstadium verschmilzt das Radiumchromatin mit dem einen haploiden Furchungskern. Beim Frosch dagegen glaube ich, um die günstigen Entwicklungsresultate bei intensiver Bestrahlung der Spermatozoen resp. der unbefruchteten Eier, die Bildung von 14—16 Tage alten Embryonen zu erklären, eine fast völlige Elimination des Radiumchromatins annehmen zu müssen, nachdem wir ja beim Seeigel die verderbliche Wirkung des Radiumchromatins auf die normalen Chromosomen bei Verschmelzung zu einem Kern festgestellt haben. Für diese Hypothese haben wir durch die makroskopische Beobachtung der Furchung auch genügend Anhaltspunkte. Denn wenn wie beim Seeigel eine Verschmelzung des Radiumkerns mit dem Eikern auch beim Frosch stattfinden sollte, so müssten wir ja auch hier eine deutliche Verzögerung der Kern- und Plasmateilung erwarten. Beim Frosch verlaufen aber die ersten Teilungen des Eies ganz normal ohne jede Verzögerung. Demnach können wir wohl bei den Froschexperimenten mit ziemlicher Sicherheit auf eine parthenogenetische bezw. androgenetische Entwicklung schliessen. Ob der Radiumkern sich unabhängig von den haploiden Furchungskernen noch langsam vermehrt, und ob diese Anwesenheit von radiumbestrahlter Kernsubstanz die, wenn auch nur geringfügige, pathologische Entwicklung der

Embryonen erklärt, oder ob die Entwicklung mit reduzierter haploider Chromosomenzahl an und für sich schon eine Neigung zu schwächlichen, kranken Embryonen herbeiführt, wie es die Anstichversuche an den Eiern von Rana fusca, die Bataillon, Henneguy und Brachet vornahmen, wahrscheinlich machen, möchte ich hier nicht entscheiden.

7. Vergleich der Ergebnisse, die durch Radiumbestrahlung tierischer Keimzellen gewonnen wurden, mit den Arbeiten von Herbst, Boveri und Teichmann und den Bastardierungsexperimenten von Kupelwieser, Baltzer und Born.

Am Schluss meiner Arbeit möchte ich noch auf einige Untersuchungen eingehen, die gleichfalls am Seeigelei und an den Geschlechtsprodukten des Frosches angestellt sind, und die, wenn auch auf anderem Wege, so doch zu ähnlichen Ergebnissen wie die Radiumexperimente geführt haben.

Herbst gab den Eiern von Sphaerechinus durch Fettsäurebehandlung nach Loeb einen Anstoss zur Parthenogenese und befruchtete sie, wenn der Eikern eine deutliche Grössenzunahme erfahren hatte, mit Samen von Strongylocentrotus. Es zeigte sich dann bei der Karyokinese in vielen Fällen ein deutliches Nachhinken des väterlichen hinter dem mütterlichen Chromatin, in einzelnen Fällen verschmolz der Spermakern erst mit dem ersten Furchungskern. Aus diesen partiell befruchteten Eiern entwickelten sich dann Gastrulae und Plutei, die halbseitig rein mütterliche, halbseitig gemischte Charaktere aufwiesen. Diese Plutei sind in der Art ihrer Entstehung und in ihren Kernverhältnissen vergleichbar den in unseren Radiumexperimenten ebenfalls durch partielle Befruchtung gebildeten Blastulae, die halbseitig normale, rein mütterliche Kerne, halbseitig gemischte radiumkranke Kerne besassen (Textfig. 1 und 2).

Noch mehr erinnern in der Art und Weise der Versuchsanordnung an unsere Radiumversuche Experimente, die Boveri anstellte und die Teichmann genauer cytologisch untersuchte. Boveri befruchtete Seeigeleier, die durch 14stündigen Aufenthalt in Meerwasser wohl auch einen geringen Anstoss zur Parthenogenese

erhalten hatten, mit Seeigelsamen, der mit Kalilauge fast bis zur völligen Bewegungsunfähigkeit behandelt war. Das so durch die Kalilauge geschädigte Chromatin des Samenfadens verschmolz nun nicht mit dem Eikern. Dieser teilte sich vielmehr selbständig mit Hilfe des Spermazentrums, während der Spermakern abseits im Bereich einer Strahlung in das Eiplasma zu liegen kam. Das väterliche Chromatin verschmolz mit dem Furchungskern der zweiten oder auch erst der vierten Blastomere. In unseren und Boveris Versuchen ist also die Teilungsfähigkeit des Spermakerns gehemmt, während sich das Spermazentrum beide Male sowohl gegen Kalilauge als gegen Radiumbestrahlung sehr widerstandsfähig erweist. Während aber Teichmann an dem Material Boveris zeigte, dass die Schädigung des Samenkerns durch die Kalilauge nur in einer Art Lähmung in der Ausbildung der Chromosomen besteht, die früher oder später wieder in normales Verhalten übergeht, erweist sich die Radiumschädigung als eine viel grössere. Die tiefgreifende Veränderung, die die chromatische Substanz durch die Radiumbestrahlung erlitten hat, lässt sich nicht wieder rückgängig machen. Chromosomen werden überhaupt nicht mehr gebildet, und die Zerfallsprodukte des Radiumchromatins wirken als eine Art giftiger Substanz auf die gesunden Eikernchromosomen ein. Trotz dieser starken Kernveränderungen war aber bemerkenswerter Weise die Bewegungsfähigkeit der Spermien gar nicht alteriert, während sie in dem Versuche Boveris fast ganz aufgehoben war. Das ist doch wieder ein deutlicher Beweis, wie elektiv die Radiumbestrahlung die Kernsubstanzen schädigt, wie weit überlegen sie hierin allen chemischen Mitteln, wie Kalilauge, Alkohol, Chloroform usw. ist. Wie leicht lässt sie sich ferner dosieren, und so aufs feinste in ihrem Wirkungsgrad abstufen! Das alles sind Vorzüge, die den Radium- und Röntgenstrahlen einen bevorzugten Platz als Mittel, in den Keimsubstanzen Veränderungen hervorzurufen, sichern sollten.

Eine dritte Reihe von Experimenten, die in ihren Resultaten manche Ähnlichkeit und Übereinstimmung mit unseren durch Radiumbestrahlung des Samens erzielten Ergebnissen haben, sind die verschiedenen Bastardierungsversuche. Von den Experimenten Kupelwiesers, wo der Mytilusspermakern als Fremdkörper

im Seeigelei liegend sich gar nicht an der Entwicklung beteiligt, bis zur Bildung fruchtbarer Mischlinge lassen die Kreuzungsexperimente eine kontinuierliche Reihe von Übergängen erkennen, wie die Bildung lebensunfähiger Embryonen und die in verschieden hohem Grade unfruchtbaren Mischlinge. (Steironothi und sterile Tokonothi Poll.) Auch unsere Radiumexperimente ergeben nun, je nach dem Grade der Schädigung des Spermakerns, eine ganze Anzahl von Fällen, die sich leicht mit den durch Bastardierung erzielten Ergebnissen in Parallele setzen lassen.

Beginnen wir mit den extremen Fällen artfremder Bastardierung, wie sie namentlich Loeb und Kupelwieser beschrieben haben, so sind mit ihnen unsere Ergebnisse bei intensiver Radiumbestrahlung der Spermien des Seeigels und des Frosches ohne weiteres vergleichbar. In beiden Versuchsreihen ist der Spermakern unfähig sich zu vermehren und nimmt an der Entwicklung gar nicht Teil.

Als nächsten Fall führe ich die Versuche Baltzers an, der bei der Kreuzung Strongylocentrotus ♀ × Sphaerechinus ♂ beobachtete, dass das väterliche Chromatin wohl mit dem Eikern verschmilzt, aber bei der ersten Mitose nicht gleichmässig auf die Furchungszellen verteilt wird, sondern aus dem Kern ausgeschieden wird und im Eiplasma liegen bleibt. Ganz denselben Vorgang haben wir auch bei unseren Radiumexperimenten in den Fällen konstatiert, wo der Spermakern mit dem Eikern kopuliert oder in die erste Mitose hineingezogen wird. So sind z. B. die Textfig. VII und VIII Baltzers ohne weiteres mit den Fig. 9 und 13 meiner Arbeit vergleichbar. Nur habe ich noch eine schädliche Beeinflussung der mütterlichen Chromosomen durch das väterliche Radiumchromatin feststellen können, während bei Baltzer die mütterlichen Chromosomen anscheinend ganz normal geblieben sind.

Während diese extremen Fälle eigentlich zu keinem wirklichen Bastardprodukt führen, indem das väterliche Chromatin sich gar nicht an dem Aufbau des Kernapparats beteiligt, kommt es in den zunächst zu besprechenden Experimenten tatsächlich zur Bildung eines Mischproduktes, das aber schon vor der Gastrulation auf dem Blastulastadium abstirbt. Hierher gehören einmal verschiedene Amphibienkreuzungen, die Pflüger und Born vornahmen, und bei denen es trotz monospermer Befruch-

tung, von der wir hier ja überhaupt nur sprechen, und regelmässiger Furchung nicht zur Gastrulation kam; ferner die zahlreichen Bastardierungsversuche Baltzers bei Echinodermen, der die Erkrankung der Bastardblastulae, die Ausstossung von Chromatin aus den kranken Kernen und die Bildung von Stereoblastulae beschreibt.

Ganz ähnliche Bilder wie Baltzer hat O. Hertwig erhalten, als er Seeigeleier mit Samen befruchtete, der nur kurz, $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde, mit Radium bestrahlt war. Auch hier beteiligte sich der Spermakern zunächst an der Furchung, bis dann auch im Blastulastadium die Erkrankung einsetzte und zur Entstehung von Stereoblastulae führte.

Als nächsthöhere Entwickungsstufe der Bastarde betrachte ich die Fälle, die über die Gastrula hinaus zur Bildung gestreckter, aber pathologischer, schwächlicher Embryonen führen, die bald früher, bald später absterben und niemals ausgewachsene Tiere aus sich entstehen lassen. Aus dem Pflanzenreiche nenne ich die Speciesbastarde die Baur erhielt, als er z. B. Abutilon striatum und Abutilon arboreum kreuzte und „sonderbare, verkümmerte, langsam wachsende Pflanzen mit absonderlich gekrümmten, unsymmetrischen Blättern" erhielt. Aus dem Tierreich verweise ich auf die Schneckenbastarde Langs, der beobachtete, dass bei der Kreuzung Helix hortensis × nemoralis oft „nur ganz vereinzelte Junge ausschlüpfen und absterben, ohne auch nur einigermassen über die Anfangsgrösse der frisch ausgeschlüpften Jungen herauszukommen".

Besonders erwähnenswert sind endlich noch die Angaben Borns, der bei Amphibienkreuzungen oft ein Absterben der Bastardembryonen vor oder bald nach dem Ausschlüpfen aus der Gallerthülle „mit deutlichen Krankheitserscheinungen, wie Wassersucht und dergleichen" beschreibt.

Auch für diese Stufe der Entwicklung pathologischer Bastarde haben wir in unseren Radiumexperimenten zahlreiche Vergleichspunkte. O. Hertwig erzielte beim Frosch durch kurze Radium- und Mesothoriumbestrahlung der Samenfäden von $^1/_4$ Minute bis $^1/_4$ Stunde Dauer je nach der Intensität der Bestrahlung die verschiedensten Grade von pathologischen Embryonen, die teils gleichfalls Bauchwassersucht zeigten, teils sogar aus den Hüllen ausschlüpften und fast wie normale Kaulquappen herumschwammen

und nur in der Kopfgegend geringe pathologische Veränderungen aufwiesen. Ich konnte ferner, wie ich hier nur kurz erwähnen will, auch bei Pflanzen durch Bestrahlung des Pollens verkümmerte Samenkörner erhalten, die teils gar nicht mehr auskeimten, teils schwächliche, kranke Pflanzen liefern, die nur langsam wachsen, zum Teil auch nach Bildung einiger verkrüppelter, chlorophyllarmer Blätter absterben, vergleichbar den soeben erwähnten Abutilonbastarden Baurs.

Als nächste Entwicklungsstufe der Bastarde müssen wir diejenigen Mischlingsformen bezeichnen, die ihre Entwicklung normal zu Ende führen und körperlich gut ausgebildete Tiere liefern, die aber in der Ausbildung ihrer Keimzellen mehr oder minder intensive Störungen erkennen lassen. Nach Poll können wir hier verschiedene Grade der Störung unterscheiden, nämlich die Steironothi, die sich wieder noch in apomitotische, monomitotische und dimitotische gliedern lassen, und die sterilen Tokonothi. Diese sterilen Tokonothi bilden dann den Übergang zu der letzten Stufe, den fertilen Tokonothi, deren Fortpflanzungsvermögen gleich demjenigen der reinen Form ist.

Für diese letzte Gruppe der Bastarde, die Steironothi und die Tokonothi, haben wir bis jetzt in unseren Radiumexperimenten noch keine Vergleichsfälle. Es fragt sich nur, ob wir durch weitere Experimente, ganz kurze Bestrahlung der Samenfäden, nicht auch noch diesen geringsten Grad der Störung hervorrufen können. Wir kommen damit zugleich zu der Frage: ist diese Ähnlichkeit der Ergebnisse der Bastardierungs- und der Radiumexperimente eine ganz äusserlich bedingte, oder lassen sich nicht auch hierfür tiefere, im Wesen der Sache liegende gemeinsame Ursachen annehmen?

Es ist wohl die allgemeine Ansicht der Forscher, die sich mit Kreuzungsversuchen beschäftigt haben, dass die mehr oder minder gute Entwicklungsfähigkeit der Bastarde auf der grösseren oder geringeren Ähnlichkeit der beiden sich vereinigenden Keimsubstanzen beruht. Es müssen sich, wie Born sagt, „die im Ei und Sperma repräsentierten Entwicklungstendenzen organisch vereinigen lassen", wenn ein lebensfähiges Zeugungsprodukt resultieren soll. Je nach den grösseren oder geringeren idioplasmatischen Unterschieden der beiden Keimzellen wird die Bastardzygote auf frühen Entwicklungsstadien absterben oder sterile oder fruchtbare Mischlinge ergeben.

Nun haben wir gesehen, dass der Spermakern durch die Radiumbestrahlung je nach ihrer Intensität mehr oder minder verändert wird. In der Zygote, die aus dem gesunden Eikern und dem radiumbestrahlten Samenkern resultiert, finden sich also zwei Idioplasmen zusammen, die nicht identisch sind, sondern je nach dem Grade der Veränderung durch die Radiumbestrahlung verschieden grosse Unterschiede aufweisen.

Auch in diesem Falle beruht die schlechtere oder bessere Entwicklungsfähigkeit der Zygote, wie wir gesehen haben, auf dem Grade der Verschiedenheit der beiden in der Zygote vereinigten Idioplasmen.

Somit glauben wir die Ähnlichkeit der Ergebnisse der Bastardierungs- und Radiumexperimente, trotz vieler bestehender Unterschiede, doch auf eine gemeinsame Ursache zurückführen zu dürfen, die Verschiedenheit der in der Zygote vereinigten Idioplasmen mit ihren verschiedenen Entwicklungstendenzen.

Unsere nächste Aufgabe wird es aber sein, diese Hypothese dadurch zu stützen, dass wir versuchen, die Erzeugung steriler, sonst aber lebenskräftiger Radiumtiere zu erzielen; ein Versuch, der gewiss mit grossen Schwierigkeiten verknüpft ist, dem aber bei der ausserordentlich feinen Dosierbarkeit der Radiumstrahlen wenigstens von dieser Seite keine unüberwindlichen Hindernisse im Wege stehen.

In einem soeben im Archiv für Entwicklungsmechanik erschienenen Aufsatz wendet sich Godlewski gegen die Schlussfolgerungen, die ich in meiner Arbeit „Radiumbestrahlung unbefruchteter Froscheier und ihre Entwicklung nach Befruchtung mit normalem Samen" gezogen habe. Einmal hält er den Satz nicht für bewiesen, dass allein der Samenkern die Radiumschädigung auf das Ei überträgt. Durch die cytologische Beobachtung habe ich soeben den endgültigen Beweis am Seeigelei erbracht, dass nur die radiumbestrahlte Kernsubstanz für alle Schädigungen der Eientwicklung verantwortlich gemacht werden kann, und dass tatsächlich das Chromatin des Samenfadens durch intensive Radiumbestrahlung vermehrungsunfähig wird.

Zweitens meint Godlewski, die Resultate meiner ersten Arbeit liessen keinen Schluss auf die Lokalisation der Erbsubstanzen im Ei zu. Er schreibt: „Noch viel weniger stichhaltig sind die Argumente, welche neuerdings von Günther Hertwig in seiner Arbeit für das Monopol der Kernsubstanz bei dem Vererbungsprozess ins Feld geführt wurden". Hierzu möchte ich bemerken, dass ich dies „Monopol der Kernsubstanz" in meiner Arbeit gar nicht behauptet habe. Ich führe aus meiner Arbeit nur folgende Sätze an: „Es sei hervorgehoben, dass wir durch unsere Versuchsergebnisse nicht in den Stand gesetzt sind, über die Rolle des Plasma bei der Vererbung etwas auszusagen"; ferner: „Wenn wir dem Plasma auch nicht jede Bedeutung für die Vererbung absprechen wollen, so wird doch jeder, der unbefangen die Resultate meiner Arbeit prüft, mit mir zu der Überzeugung gelangen: Der Kern ist der Hauptträger der Vererbungssubstanz". Diesen letzten Satz vertrete ich auch jetzt noch, und möchte Godlewski auf eine kürzlich erschienene Arbeit von O. Hertwig hinweisen, in der er die Radium- und Mesothoriumexperimente direkt als einen experimentellen Beweis für die Idioplasmanatur der Kernsubstanzen bezeichnet und noch einmal die Gründe hierfür zusammenfasst.

Mit Recht weist O. Hertwig im Anschluss an Naegeli darauf hin, „dass der wahre Wert einer Erbschaft bei der Fortpflanzung nicht auf der Quantität, sondern auf der Qualität der vererbten Substanzen beruht, und dass es die Aufgabe der Biologen ist, die im Samenfaden und in der Eizelle unterscheidbaren Substanzen auf ihren Wert abzuschätzen". Es kann keinem Zweifel unterliegen und wird auch allgemein angenommen, dass die Kernsubstanzen eine höhere Wertigkeit für die Entwicklung besitzen als das Protoplasma und der Eidotter; sie werden daher mit Recht von O. Hertwig und Strasburger als Träger des Idioplasma bezeichnet.

Daher bedeutet es sicher einen Rückschritt, wenn immer wieder, angeblich im Gegensatz zur Idioplasmatheorie, der Satz aufgestellt wird: Kern und Protoplasma sind Träger der Vererbungssubstanz. Denn bei dieser Formulierung kommt die durch Beobachtung und Experiment festgestellte verschiedene Bedeutung der Substanzen für die Übertragung der erblichen Charaktere gar nicht zur Geltung. Die Theorie aber, die die

Kernsubstanzen als Träger des Idioplasma bezeichnet, wird in ihrer Richtigkeit hierdurch gar nicht berührt; denn dass Protoplasma und Eidotter auch zur Erbmasse gehören, ist selbstverständlich und auch von den Urhebern der Idioplasmatheorie nie geleugnet worden. So sagt O. Hertwig: „Bei meiner Fassung der Idioplasmatheorie wird dem Protoplasma und der Dottersubstanz von der Bedeutung, die ihnen im Entwicklungsprozess zukommt, auch nicht ein Tüttelchen genommen. Es steht in keinem Widerspruch zur Idioplasmatheorie, dass die Eizelle, obgleich ihr der Samenfaden als Träger erblicher Eigenschaften und durch den Besitz des Idioplasma äquivalent ist, doch infolge ihrer grösseren Masse, durch ihren Reichtum an Protoplasma und Deutoplasma und durch die verschiedenartige Verteilung derselben nicht nur den ersten Stadien des Entwicklungsprozesses ihr besonderes Gepräge verleiht, sondern auch viel später noch die Ursache mancher Einrichtungen, wie z. B. des Dottersackes, ist."

Wie wenig Glück aber Godlewski in seiner gegen mich gerichteten Polemik mit seinen Annahmen hat, zeigt folgendes Beispiel: Ich hatte in meiner ersten Arbeit darauf hingewiesen, dass eine Mitbeteiligung des Spermaplasma an der Übertragung der Radiumschädigung auf das Ei unter anderem deshalb nicht wahrscheinlich sei, weil es bei den ersten Eiteilungen wohl kaum gleichmässig auf alle Furchungszellen verteilt würde. Godlewski schreibt dagegen: „Ich möchte nur bemerken, dass auch die gleichmässige Verteilung des Plasmas in Anbetracht der sogar in vivo wahrnehmbaren Strömungen am Anfange der Entwicklung nicht so schwer anzunehmen ist".

Es ist zuzugeben, dass für einen Anhänger der Übertragung erblicher Charaktere durch das Spermaprotoplasma diese gleichmässige Verteilung desselben auf die Blastomeren eine notwendige Annahme ist.

In einer soeben erschienenen Arbeit hat nun aber Meves den äusserst wichtigen Nachweis führen können, dass das Mittelstück des Seeigelspermatozoons bei der ersten Teilung nicht gleichmässig auf die beiden ersten Blastomeren verteilt wird, sondern nur in eine der beiden Furchungszellen zu liegen kommt. Ja, es scheint fast, als ob es auch bei der nächsten Teilung nicht gleichmässig verteilt würde. Doch stehen hierüber die endgültigen Untersuchungen noch aus. Auf jeden Fall aber sind diese Be-

obachtungen von Meves, der als Anhänger der Lehre, dass die Plastochondrien erbliche Eigenschaften übertragen, gerade die gleichmässige Verteilung des Spermaplasma auf die Blastomeren nachweisen wollte, höchst bemerkenswert. Sie zeigen mit absoluter Sicherheit, dass das Spermaplasma nicht als Idioplasma anzusprechen ist, dass allein der Spermakern die väterlichen Eigenschaften überträgt, die in den zahlreichen, beim Seeigel angestellten Bastardierungsversuchen zutage treten. Somit sind die Untersuchungen von Meves ein neuer, wichtiger Beweis für die Richtigkeit der von O. Hertwig und Strasburger aufgestellten Theorie: „Die Kernsubstanzen sind allein die Träger des Idioplasma".

Literaturverzeichnis.

Baltzer, F.: Über die Beziehung zwischen dem Chromatin und der Entwicklung und Vererbungsrichtung bei Echinodermenbastarden. Arch. f. Zellforsch., Bd. V, 1910.

Bataillon, E.: Le problème de la fécondation circonscrit par l'imprégnation sans amphimixie et la parthénogénèse traumatique. Arch. de Zool. Exp., Tome 6, Nr. 2, 1910.

Baur, E.: Einführung in die experimentelle Vererbungslehre. Berlin, Borntträger, 1911.

Born, G.: Biologische Untersuchungen. II. Weitere Beiträge zur Bastardierung zwischen den einheimischen Anuren. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 27, 1886.

Boveri, Th.: Über partielle Befruchtung. Sitzungsber. d. Gesellsch. f. Morph. u. Phys., München, Bd. IV, H. 2, 1888.

Derselbe: Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkernes. Jena 1904.

Brachet, A.: Études sur les localisations germinales et leur potentialité réelle dans l'oeuf parthénogénétique de Rana fusca. Arch. de Biol., T. 26, 1911.

Godlewski, E., jun.: Plasma und Kernsubstanz in der normalen und der durch äussere Faktoren veränderten Entwicklung der Echiniden. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 26, 1908.

Derselbe: Das Vererbungsproblem im Lichte der Entwicklungsmechanik betrachtet. Leipzig 1909.

Derselbe: Studien über die Entwicklungserregung. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. XXXIII, 1911.

Heidenhain, M.: Plasma und Zelle. I. Jena 1907.

Herbst, C.: Vererbungsstudien. IV. und VI. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 22, 1906 und Bd. 27, 1909.

Hertwig, G.: Radiumbestrahlung unbefruchteter Froscheier und ihre Entwicklung nach Befruchtung mit normalem Samen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77, Abt. II, 1911.

Hertwig, O.: Das Problem der Befruchtung und der Isotropie des Eies, eine Theorie der Vererbung. Jenaische Zeitschr., 1884.

Derselbe: Allgemeine Biologie. IV. Auflage, Jena 1912.

Derselbe: Der Kampf um Kernfragen der Entwicklungs- und Vererbungslehre. Jena. G. Fischer. 1909.

Derselbe: Die Radiumstrahlung in ihrer Wirkung auf die Entwicklung tierischer Eier. Mitteilung vom 15. Juli 1909. Sitzungsber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wiss., XI. 1910.

Derselbe: Neue Untersuchungen über die Wirkung der Radiumstrahlung auf die Entwicklung tierischer Eier. Mitteilung vom 28. Juli 1910. Sitzungsber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wiss., XXXIX, 1910.

Derselbe: Die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen. Bonn. Fr. Cohen. 1911.

Derselbe: Mesothoriumversuche an tierischen Keimzellen, ein experimenteller Beweis für die Idioplasmanatur der Kernsubstanzen. Mitteilung vom 6. Juli 1911. Sitzungsber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wiss., XL, 1911.

Hertwig, O. und R.: Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluss äusserer Agentien. Jena 1887.

Hertwig, Paula: Durch Radiumbestrahlung hervorgerufene Veränderungen in den Kernteilungsfiguren der Eier von Ascaris megalocephala. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77, Abt. II, 1911.

Kostanecki, K.: Über parthenogenetische Entwicklung der Eier von Mactra mit vorausgegangener oder unterbliebener Ausstossung der Richtungskörper. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 78, Abt. II, 1911.

Kupelwieser: Entwicklungserregung bei Seeigeleiern durch Molluskensperma. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 27, 1909.

Lang, A.: Über die Bastarde von Helix hortensis Müller und Helix nemoralis L. Jena 1908.

Loeb, J.: Über die Natur der Bastardlarve zwischen dem Echinodermenei (Strongylocentrotus franciscanus) und Molluskensamen (Chlorostoma funebrale). Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 26, 1908.

Meves, F.: Zum Verhalten des sogenannten Mittelstückes des Echinidenspermiums bei der Befruchtung. Anat. Anz., Bd. 40, 1911.

Derselbe: Weitere Beobachtungen über das Verhalten des Echinidenspermiums bei der Befruchtung. Anat. Anz., Bd. 40, 1912.

Pflüger, E.: Die Bastardzeugung bei den Batrachiern. Pflügers Arch. f. d. ges. Phys., Bd. XXIX, 1882.

Poll, H.: Mischlingsstudien III: System und Kreuzung. Sitzungsber. d. Gesellsch. naturf. Freunde, Nr. 6. 1908.

Derselbe: Mischlingsstudien V: Vorsamenbildung bei Mischlingen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77, Abt. II. 1911.

Strasburger, E.: Chromosomenzahlen, Plasmastrukturen, Vererbungsträger und Reduktionsteilung. Jahrb. f. wiss. Botan., Bd. 45, 1908.
Derselbe: Meine Stellungnahme zur Frage der Pfropfbastarde. Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellsch., 27, 1909.
Teichmann, E.: Über Furchung befruchteter Seeigeleier ohne Beteiligung des Spermakernes. Jenaische Zeitschr., Bd. 37, 1902.
Winkler: Solanum tubigense, ein echter Pfropfbastard zwischen Tomate und Nachtschatten. Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellsch., 26a, 1908.
Derselbe: Über Propfbastarde. Gesellschaft deutscher Naturf. und Ärzte. Verhandl. 1911.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel X—XII.

Sämtliche Figuren sind bei Zeiss' Homog. Immersion $^1/_{12}$, Tubuslänge 160, Okular 4, nur Fig. 39 mit Okular 2 in der Höhe des Objekttisches gezeichnet. Soweit nicht anders bemerkt, sind die Figuren in Originalgrösse reproduziert. Alle Figuren stellen Schnittbilder durch Seeigeleier auf verschiedenen Entwicklungsstufen dar, die sämtlich mit Samen befruchtet sind, der intensiv mit Radium bestrahlt wurde.

Allgemein gültige Bezeichnungen:

Mes = Mesothoriumpräparat: 55 mg reines Radiumbromid.
Rad. I, II, III = Radiumpräparat 7,4 mg, 5,3 mg, 2 mg reines Radiumbromid.

Tafel X.

Die Fig. 1—10, 13—15 stammen von Eiern, die mit Samen befruchtet sind, der 12 Stunden mit Mes. bestrahlt wurde.
Die Eier, Fig. 11 und 12, wurden mit Samen befruchtet, der 15 Stunden mit Mes. bestrahlt wurde.
Fig. 1—10. 55 Minuten nach Befruchtung.
Fig. 11 und 12. $1^1/_2$ Stunde nach Befruchtung.
Fig. 13—15. $1^1/_2$ Stunde nach Befruchtung.
Fig. 9—15 auf $^2/_3$ verkleinert.

Tafel XI und XII.

Die Fig. 16—30, 33, 35, 37—40 stammen von Eiern, die mit Samen befruchtet wurden, der 16 Stunden mit Rad. I bestrahlt wurde.
Die Fig. 31, 32, 34, 36 stellen Eier dar, die mit Samen befruchtet wurden, der 16 Stunden mit Rad. II und III bestrahlt wurde.

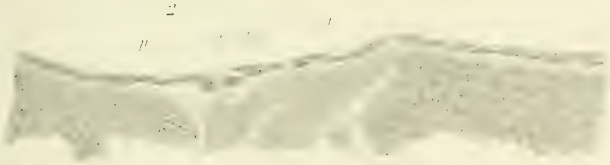
Tafel XI.

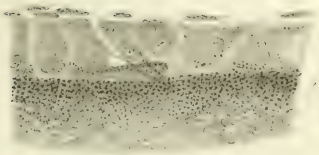
Fig. 16. $^1/_2$ Stunde nach Befruchtung.
Fig. 17—20. $^3/_4$ Stunde nach Befruchtung.
Fig. 21. 1 Stunde nach Befruchtung.
Fig. 22 und 23. $1^1/_4$ Stunde nach Befruchtung.
Fig. 24. $1^1/_2$ Stunde nach Befruchtung.

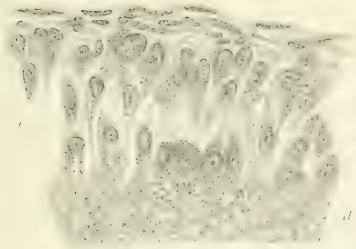
Fig. 25. 2 Stunden nach Befruchtung.
Fig. 26—29. 4 1/4 Stunden nach Befruchtung.
Fig. 30. 3 3/4 Stunden nach Befruchtung.
Fig. 31. 4 1/2 Stunden nach Befruchtung.
Fig. 32. 3 3/4 Stunden nach Befruchtung.
Fig. 33. 4 1/4 Stunden nach Befruchtung.
Fig. 34. 4 1/2 Stunden nach Befruchtung.

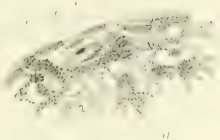
Tafel XII.

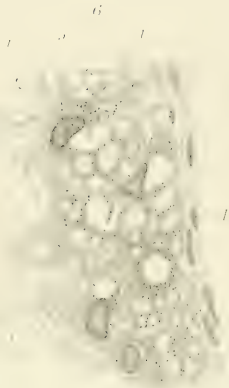
Fig. 35. 3 3/4 Stunden nach Befruchtung.
Fig. 36. 4 1/2 Stunden nach Befruchtung.
Fig. 37 und 38. 3 3/4 Stunden nach Befruchtung
Fig. 39. 8 3/4 Stunden nach Befruchtung.
Fig. 40. 4 1/4 Stunden nach Befruchtung. Auf 2/3 verkleinert.

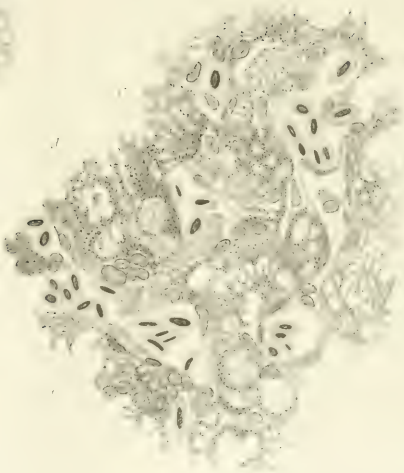


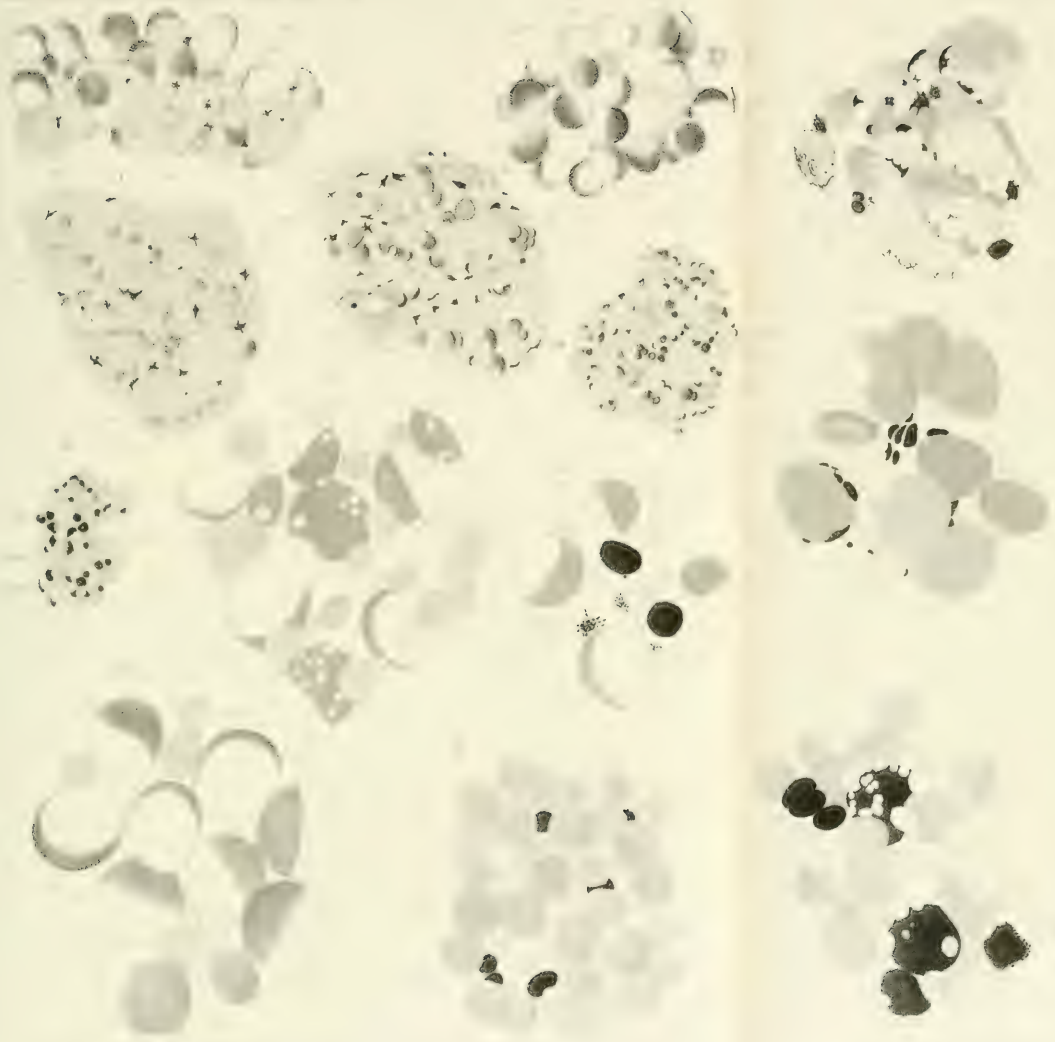


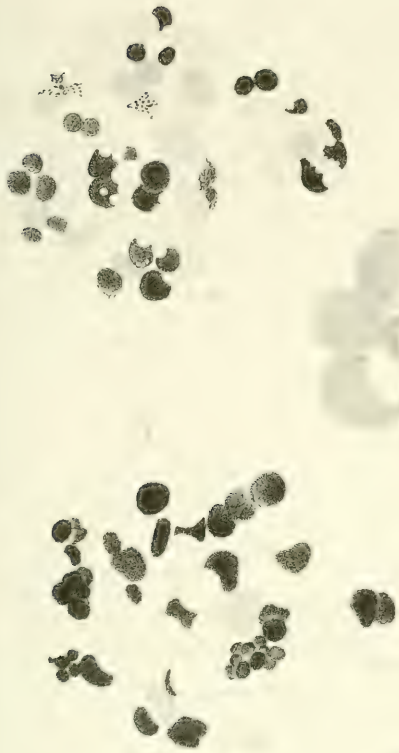












1
2
3
5
7
8
9
10
11
Myot.
Ekt
Ent
Stpl
WG
UGZ
Sompl.
Splpl.

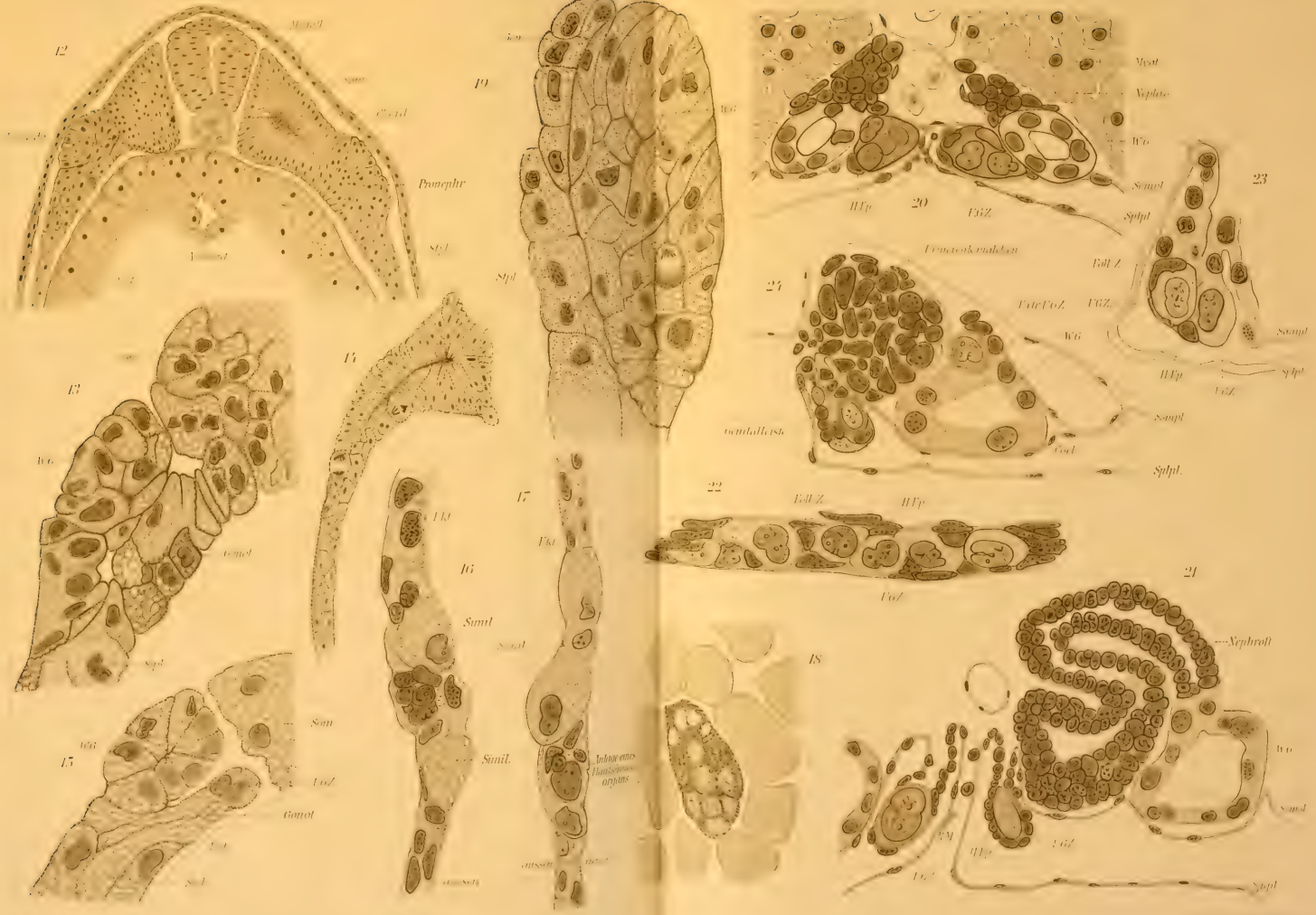
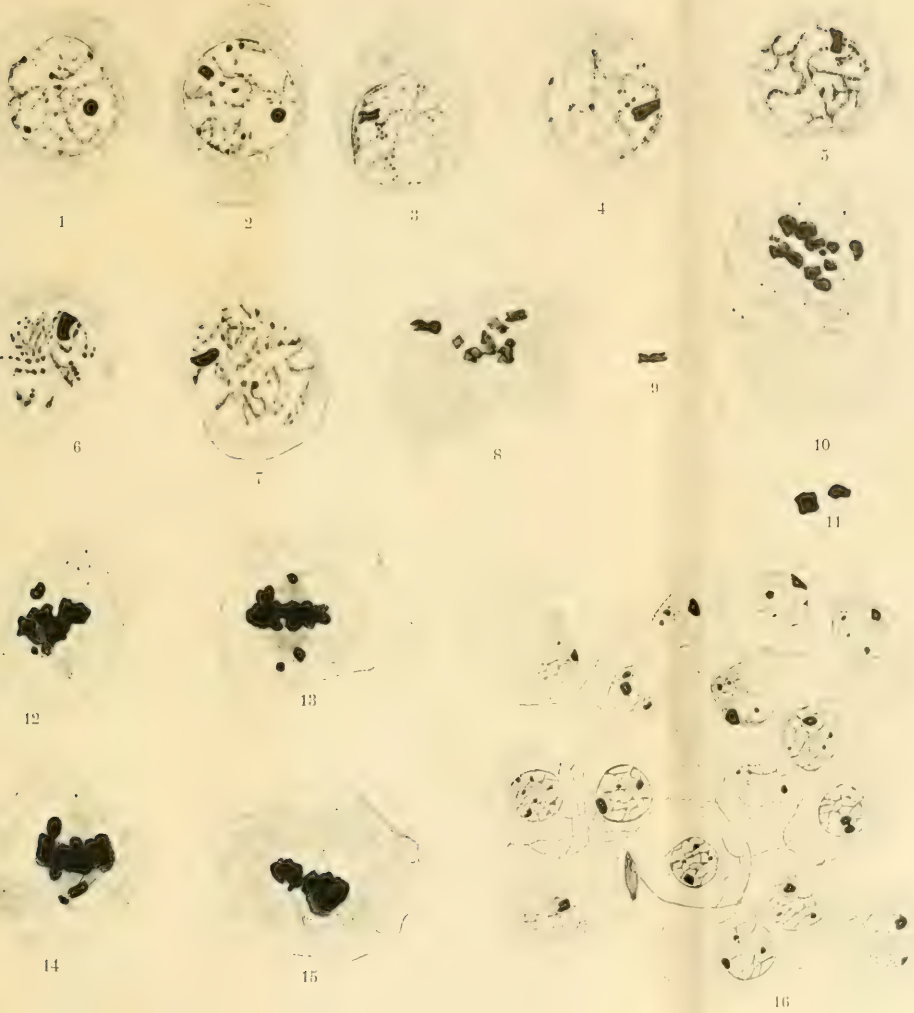
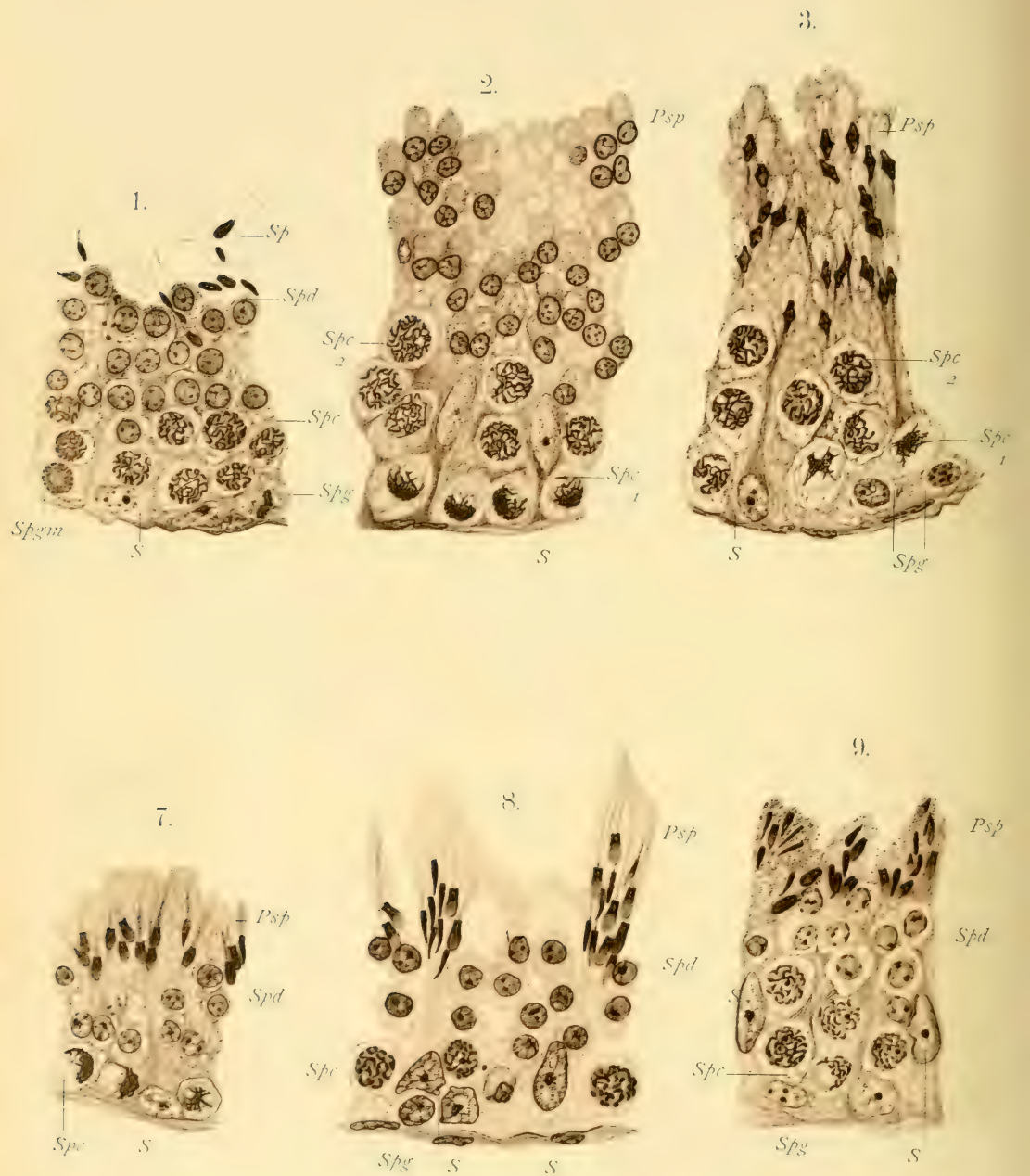

12
Pronephr
19
Stpl
20
Myot
Nephro
Wo
Sampl
Sptpl
23
Foll Z
Sampl
Sptpl
24
Sampl
Sptpl.
22
Foll Z
21
Nephroft
13
14
15
Gonot
16
Sumil
Sumil.
17
Anlage eines Hautsinnes organs
18

Fig. 25.

Rekonstruktion der Wolffschen Gänge und der Urgeschlechtsanlagen verschiedener Altersstufen. (Vergl. jedoch dazu die Schematafel!)

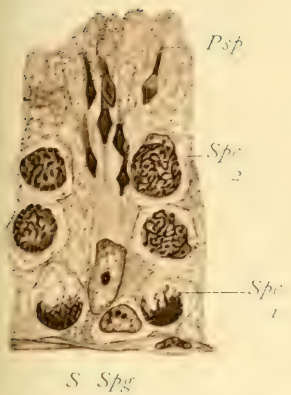
Die Rekonstruktionsbilder zeigen in plastischer Darstellung den rechten Wolffschen Gang bis zur Einmündung in den Darm und an ihm die Genitalanlage der rechten Seite. Rechts vom Wolffschen Gang ist die horizontale Schnittfläche des Ektoderms in der Höhe des horizontalen Durchmessers des Wolffschen Ganges dargestellt, um die Lage der Somite anzudeuten. Links und rechts vom Wolffschen Gang sind die oberen Ränder der Seitenplatte eingezeichnet. Die Rekonstruktionen wurden in der Weise hergestellt, dass jeder fünfte Schnitt mit der Camera gezeichnet und auf die Horizontalebene projiziert wurde. Die dazwischenliegenden Schnitte wurden nach Augenmaß eingetragen. Die so erhaltenen Rekonstruktionen wurden unter Zugrundelegung eines Einheitsmaßes (die Länge eines Somits ist für alle Stadien gewählt) verkleinert.


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16

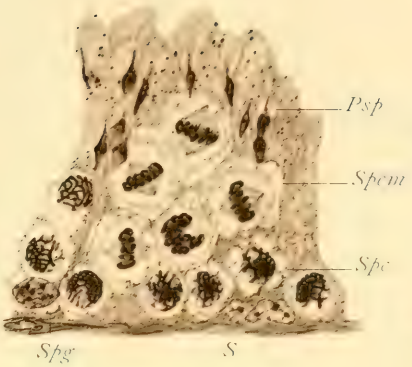


Gezeichnet von E. Schultz-Hencke.

4.



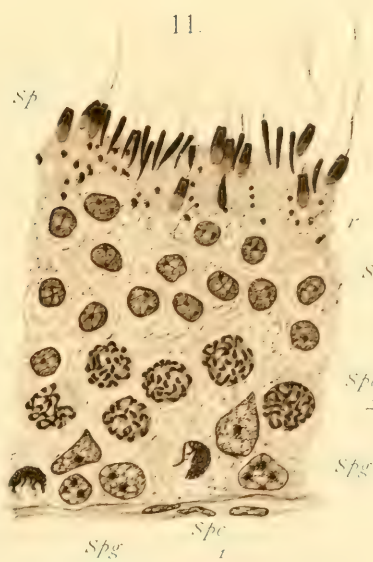
5.



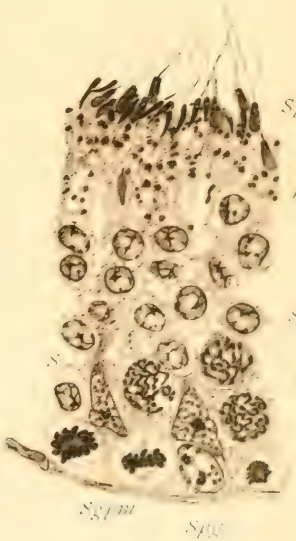
6.

10.

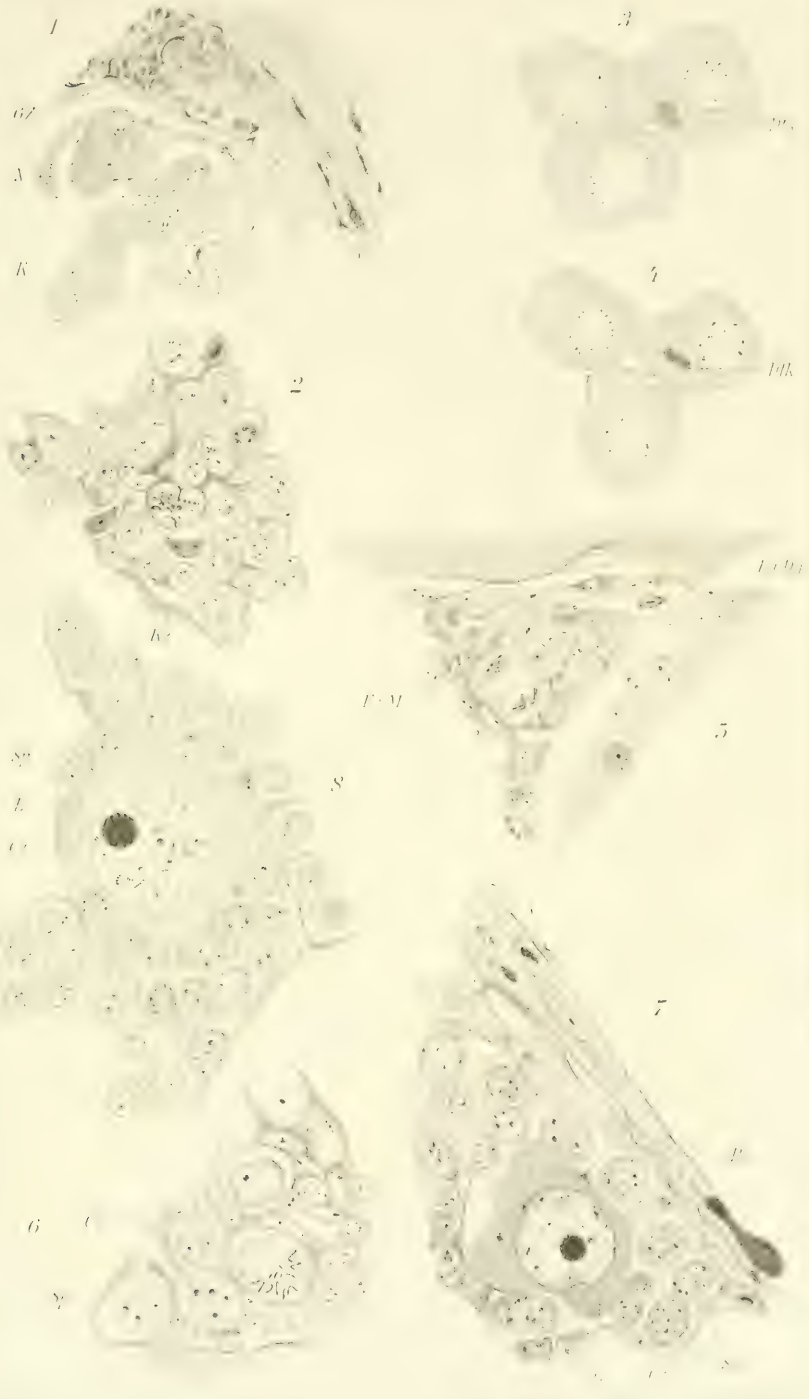
11.



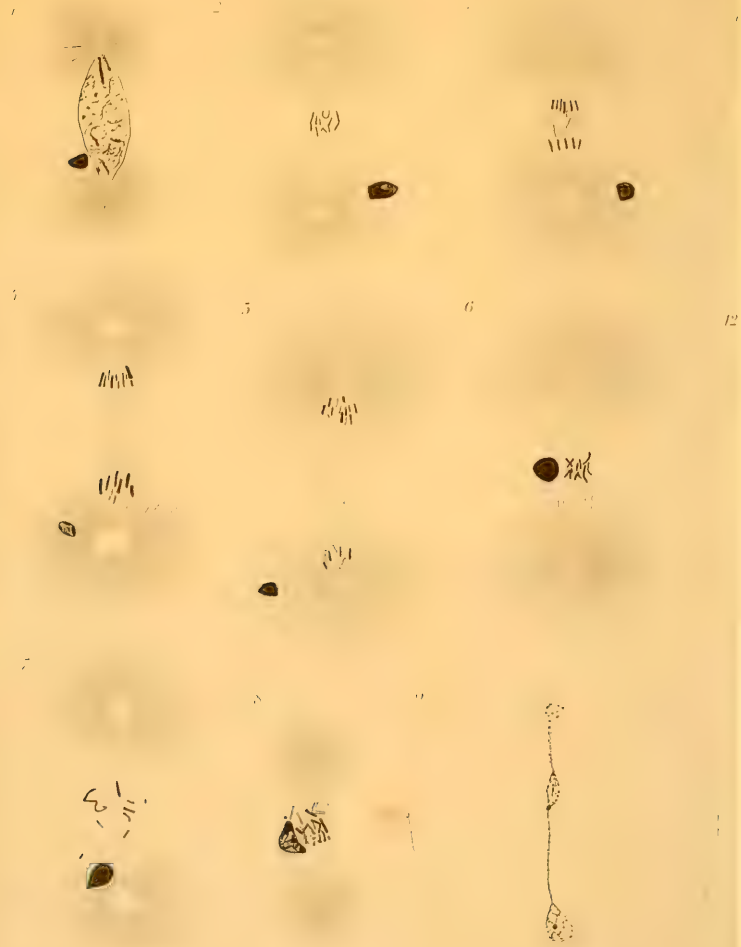
12.



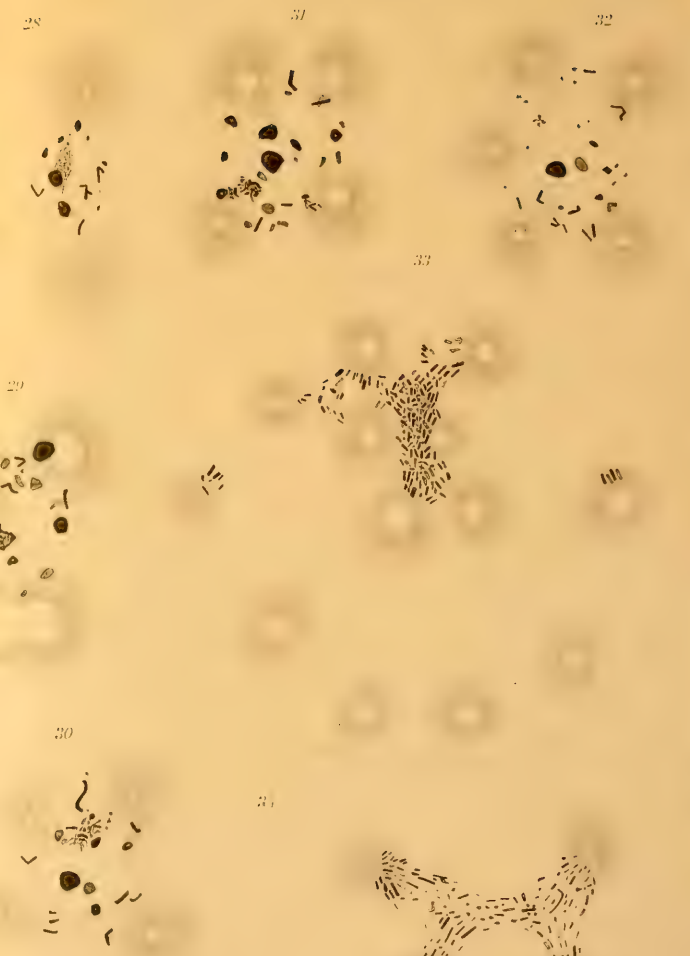
Doppelton-Lichtdruck von Herrm. Hadorff & Co., Berlin.


1
3
4
2
5
6
7
8

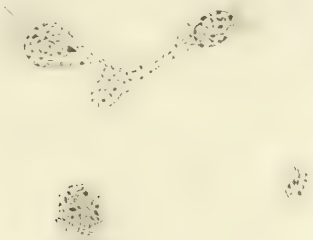
1
2



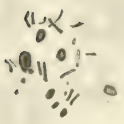
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27


28
31
32
33
29
30
34

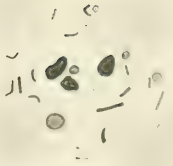
37



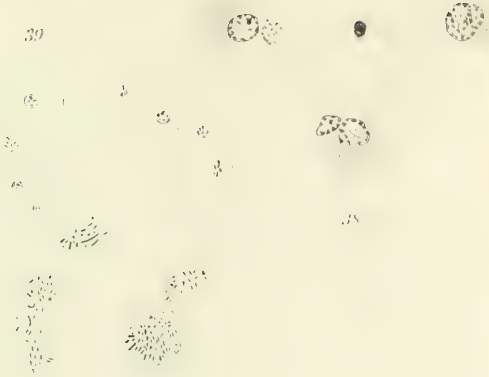
35



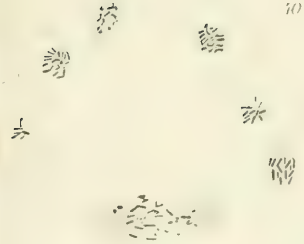
36



39



40



MBL WHOI Library - Serials
5 WHSE 02645

1460